世界知的所有権機関 特許協力条約に基づいて公開された国際出願



(51) 国際特許分類6 C12N 15/12, C07K 14/435, 16/18

(11) 国際公開番号 A1

WO99/28457

(43) 国際公開日

1999年6月10日(10.06.99)

(21) 国際出願番号

PCT/JP98/05306

(22) 国際出願日

1998年11月25日(25.11.98)

(30) 優先権データ

特願平9/343789 特願平10/126803 1997年11月28日(28.11.97)

1998年4月20日(20.04.98)

(71) 出願人 (米国を除くすべての指定国について)

大塚製薬株式会社

(OTSUKA PHARMACEUTICAL CO., LTD.)[JP/JP] 〒101-0048 東京都千代田区神田司町2丁目9番地 Tokyo, (JP)

(72) 発明者;および

(75) 発明者/出願人(米国についてのみ)

原田陽介(HARADA, Yosuke)[JP/JP]

〒770-0868 徳島県徳島市福島1-6-55 レジデンス福島705 Tokushima, (JP)

尾崎浩一(OZAKI, Kouichi)[JP/JP]

〒770-0865 徳島県徳島市南末広町2-67

リバーサイド南末広7番館 Tokushima, (JP)

(74) 代理人

弁理士 三枝英二,外(SAEGUSA, Eiji et al.) 〒541-0045 大阪府大阪市中央区道修町1-7-1

北浜TNKビル Osaka, (JP)

CA, CN, US, 欧州特許 (AT, BE, CH, CY, DE, (81) 指定国 DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).

添付公開書類

国際調査報告書

(54) Title: **TSA305 GENE**

(54)発明の名称 TSA305遺伝子

A pancreas-specific gene which contains a base sequence encoding the amino acid sequence represented by SEQ ID NO:1 and is utilizable in the fields of study, diagnosis and therapy of pancreatic carcinoma.

e), 💉 🙀 i

本発明は、特に膵臓癌の研究、診断、治療等の分野で 有効な、配列番号:1で示されるアミノ酸配列をコード する塩基配列を含む膵臓特異的遺伝子を提供する。

PCTに基づいて公開される国際出願のパンフレット第一頁に掲載されたPCT加盟国を同定するために使用されるコード(参考情報)

A. fee

2 W. W.

STATE OF STATE

SSSSSSTTTTTTTTUUUUUVYZZ CONTROL OF TOTAL OF THE TOTAL

明細書

T S A 3 0 5 遺伝子

技術 分野

本発明は膵臓に特異的に発現する蛋白をコードする遺 5 伝子TSA305、より詳しくは、線虫のsel-1と 高い相同性を有し、癌に対して抑制的に働くと考えられ る上記膵臓特異的遺伝子に関する。また本発明は、かか る遺伝子によってコードされる新規な蛋白質及びその特 異抗体にも関する。

10 背景技術

膵臓癌は、日本人及び西側諸国の癌関連死亡順位において4位及び5位を占める、消化器系の悪性腫瘍の中でも最も予後不良な癌である(Poston, J. G., et al.,

Gut., 32, 800-812 (1991))。癌研究における最も重要なゴールは、癌化に至る早期の遺伝子変化を見分けることである。この変化の見極めができれば、早期診断のための遺伝子的なツールの開発とこの致死的な疾患をより効果的に治療するための新規な治療的アプローチとを導くことができる。

20 一方、線虫の s e l - l 遺伝子は、線虫において神経発生の際の外胚葉からニューロブラストへの分化を抑制するNotch/lin-12に対して、抑制的に働く

ことが報告されている (Genetics, <u>143</u> (1), 237-247 (1996): Development, <u>124</u> (3), 637-644 (1997))。 該Notch/lin-l2は、その強制発現が乳癌や白血病を惹起させるため、癌関連遺伝子と考えられている。

5 該癌関連遺伝子の抑制的な働きをなす上記 s e l - l 遺伝子は、従って癌に対しても抑制的に働くと考えられるが、現在尚之等遺伝子の役割については明確に解明されている訳ではない。

かかる遺伝子の生理的役割の解明とそれにより得られ 10 る情報は、癌化や炎症等の疾患の発症機能の解明に重要 であり、これらは、基礎科学研究の分野はもとより、医 薬品分野においても癌や炎症等の疾患の解明やその処置 法等の開発面からも望まれているところである。

発明の開示

15 本発明は、斯界で要望される前記の情報、殊にsel-1遺伝子と相同性を有する新規な蛋白相同物をコードする遺伝子を提供することを目的とする。

上記目的より、本発明者は、各種ヒト組織由来の遺伝子につき検索を重ねた結果、新たに膵臓に特異的に発現 する蛋白をコードする遺伝子の単離、同定に成功し、該遺伝子が上記目的に合致することを見いだし、ここに本発明を完成するに至った。

即ち、本発明によれば、配列番号:1で示されるアミノ酸配列からなる蛋白質をコードする塩基配列を含む膵臓特異的遺伝子TSA305、特にヒト遺伝子である当該遺伝子が提供される。

5 また本発明によれば、配列番号:1で示されるアミノ 酸配列からなる膵臓特異的蛋白質(TSA305蛋白) 及びこれに結合性を有する抗体が提供される。

更に本発明によれば、以下の(a)及び(b)のいずれかのポリヌクレオチドからなる膵臓特異的遺伝子TSA
10 305、特にヒト遺伝子である当該遺伝子が提供される。
(a)配列番号:2で示される塩基配列の全部又は一部を含むポリヌクレオチド、

(b)配列番号:2で示される塩基配列からなるDNAと ストリンジェントな条件下でハイブリダイズするポリヌ 15 クレオチド。

加えて、本発明によれば、遺伝子検出用の特異プロープ又は特異プライマーとして使用されるDNA断片である上記遺伝子が提供される。

以下、本明細書におけるアミノ酸、ペプチド、塩基配20 列、核酸等の略号による表示は、IUPAC-IUBの規定 [IUPAC-IUB Communication on Biological Nomenclature, Eur. J. Biochem., 138: 9 (1984)]、

「塩基配列又はアミノ酸配列を含む明細書等の作成のためのガイドライン」(特許庁編)及び当該分野における 慣用記号に従うものとする。

本発明遺伝子の一具体例としては、後述する実施例に 示される「TSA305」と名付けられたPCR産物の DNA配列から演繹されるものを挙げることができる。 その塩基配列は、配列番号:3に示されるとおりである。

該遺伝子は、配列番号:1に示される794アミノ酸配列の新規な膵臓特異的蛋白(TSA305蛋白という)10 をコードする、配列番号:2で示される塩基配列の、コード領域を含むヒトcDNAであり、全長7885塩基からなっている。

本発明遺伝子TSA305の発現産物であるTSA 305蛋白は、FASTAプログラム(Person W. R., 15 et al., Proc. Natl. Acad. Sci., USA., <u>85</u>, 2444-

2448 (1988)) を利用したGenBank/EMBLデーターベースの検索の結果、線虫のsel-1遺伝子(前記文献参照)と非常に高い相同性を有していることが確認された。このことから、本発明遺伝子は、胚発生の全般に関わると

20 されている癌関連遺伝子であるNoctch/lin-12に対して、上記sel-1と同様に、抑制的に働く と考えられる。

15

20

また、本発明遺伝子の染色体上の位置は、インスリン依存性糖尿病(IDDM)の原因遺伝子が存在するとされる第14染色体 q24.3-q31.1である。このことから、本発明遺伝子は、糖尿病との関連が強く示唆される。

更に、本発明遺伝子の発現産物は、フィブロネクチン TypeIIコラーゲン結合ドメインを含む蛋白であることが明らかとなった。かかるN末端付近のコラーゲン結合部位は線維化との関わりを示唆するものであり、このことから本発明遺伝子は、線維症との関連も強く示唆される。

加えて、本発明遺伝子は、試験した膵癌標本の全てにおいてその発現の欠失が認められ、主に正常膵臓に発現することから、癌化における潜在的な予測の価値を提言する。

このように、本発明に係わる遺伝子TSA305及び その発現産物の提供は、乳癌、白血病、線維症、糖尿病、 膵癌等の各種疾患、殊に膵癌の解明、把握、診断、予防 及び治療等に極めて有用な情報乃至手段を与える。また、 本発明遺伝子は、上記各種疾患の処置に利用される本発 明遺伝子の発現を誘導する新規薬剤の開発の上でも好適 に利用できる。更に、個体或は組織における本発明遺伝 子の発現又はその発現産物の検出や、該遺伝子の変異 (欠失や点変異)又は発現異常の検出等は、上記疾患の 解明や診断上において好適に利用できると考えられる。

本発明遺伝子は、具体的には配列番号:1で示される

7 ミノ酸配列からなる蛋白質をコードする塩基配列を含む遺伝子又は配列番号:2で示される塩基配列を含むポリヌクレオチドからなる遺伝子として例示されるが、特にこれらに限定されることなく、例えば、上記特定のアミノ酸配列において一定の改変を有する遺伝子や上記特定の塩基配列と一定の相同性を有する遺伝子であることができる。

即ち、本発明遺伝子には、配列番号:1に示されるアミノ酸配列において、1又は複数のアミノ酸が欠失、置換又は付加されたアミノ酸配列からなりTSA305と同様の活性を有する蛋白質をコードする塩基配列を含む遺伝子もまた包含される。ここで、「アミノ酸の欠失、置換又は付加」の程度及びそれらの位置等は、改変された蛋白質が、配列番号:1で示されるアミノ酸配列からなる蛋白質と同様の機能を有する同効物であれば特に制なる蛋白質と同様の機能を有する同効物であれば特に制なるまれない。尚、上記複数は、2以上、通常数個を意味する。

上記アミノ酸配列の改変(変異)等は、天然において、

Selection (

5

10

例えば突然変異や翻訳後の修飾等により生じることもあ るが、天然由来の遺伝子(例えば本発明の具体例遺伝子) に基づいて人為的に改変することもできる。本発明は、 このような改変・変異の原因及び手段等を問わず、上記 特性を有する全ての改変遺伝子を包含するものである。 上記の人為的手段としては、例えばサイトスペシフィ ック・ミュータゲネシス [Methods in Enzymology, <u>154</u> : 350, 367-382 (1987); 同 <u>100</u>: 468 (1983); Nucleic Acids Res., 12: 9441 (1984); 続生化学実験講座 1 「遗伝子研究法II」、日本生化学会編, p105 (1986)〕等 の遺伝子工学的手法、リン酸トリエステル法やリン酸ア ミダイト法等の化学合成手段 [J. Am. Chem. Soc., <u>89</u>: 4801 (1967); 同<u>91</u>: 3350 (1969); Science, <u>150</u>: 178 (1968); Tetrahedron Lett., 22: 1859 (1981); 同24: 245 (1983)] 及びそれらの組合せ方法等が例示できる。 15 本発明遺伝子のひとつの態様としては、配列番号:3 で示される塩基配列の全部或は一部を含むポリヌクレオ チドからなる遺伝子を例示できる。この塩基配列に含ま れるオープンリーディングフレーム(配列番号:2に示 す塩基配列)は、上記アミノ酸配列(配列番号:1)の 20 各アミノ酸残基を示すコドンの一つの組合せ例でもあり、

本発明遺伝子はこれらに限らず、各アミノ酸残基に対し

て任意のコドンを組合せ選択した塩基配列を有することも勿論可能である。該コドンの選択は、常法に従うことができ、例えば利用する宿主のコドン使用頻度等を考慮することができる〔Ncleic Acids Res., 9: 43 (1981)〕。

5 また、本発明遺伝子は、例えば配列番号:2に示されるように、一本鎖 D N A の塩基配列として表示されるが、本発明はかかる塩基配列に相補的な塩基配列からなるポリヌクレオチドやこれらの両者を含むコンポーネントも当然に包含するものであり、また c D N A 等の D N A に10 限定されることもない。

更に、本発明の遺伝子には、前記のとおり、配列番号: 2に示される塩基配列の全部又は一部を含むポリヌクレオチドからなるものに限定されず、当該塩基配列と一定の相同性を有する塩基配列からなるものも包含される。かかる遺伝子としては、少なくとも、下記に掲げるようなストリンジェントな条件下で、配列番号: 2で示される塩基配列からなるDNAとハイブリダイズし、一定の条件下での洗浄してもこれより脱離しないものが挙げられる。

20 即ち、配列番号: 2 の塩基配列を有する D N A と、 6 × S S C 中 6 5 ℃ 一夜の条件下或は 5 0 % ホルムアミド を含む 4 × S S C 中 3 7 ℃ 一夜の条件下においてハイブ リダイズし、2×SSC中65℃での30分間の洗浄条件下においても該DNAから脱離しない塩基配列を有する遺伝子が例示される。ここで、SSCは、標準食塩ークエン酸緩衝液(standard saline citrate; 1×SSC = 0.15M NaCl. 0.015M sodium citrate)である。

本発明の遺伝子は、その具体例についての配列情報に基づいて、一般的な遺伝子工学的手法により容易に製造・取得することができる [Molecular Cloning 2d Ed, Cold Spring Harbor Lab. Press (1989); 続生化学実験10 講座「遺伝子研究法Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ」、日本生化学会編(1986)等参照]。

具体的には、本発明遺伝子が発現される適当な起源より、常法に従って c D N A ライブラリーを調製し、該ライブラリーから、本発明遺伝子に特有の適当なプローブや抗体を用いて所望クローンを選択することにより実施できる [Proc. Natl. Acad. Sci., USA., 78: 6613 (1981); Science, 222: 778 (1983)等]。

上記において、 c D N A の起源としては、本発明遺伝子を発現する各種の細胞、組織やこれらに由来する培養20 細胞等、特に膵臓組織が例示され、これらからの全R N A の分離、 m R N A の分離や精製、 c D N A の取得とそのクローニング等はいずれも常法に従い実施できる。

尚、 c D N A ライブラリーは市販されてもおり、本発明においてはそれら c D N A ライブラリー、例えばクローンテック社 (Clontech Lab. Inc.) より市販の各種 c D N A ライブラリー等を用いることもできる。

5 本発明遺伝子を c D N A ライブラリーからスクリーニングする方法も、特に制限されず、通常の方法に従うことができる。具体的には、例えば c D N A により産生される蛋白質の特異抗体を使用した免疫的スクリーニングにより対応する c D N A クローンを選択する方法、目的のD N A 配列に選択的に結合するプローブを用いたプラークハイブリダイゼーション、コロニーハイブリダイゼーション等やこれらの組合せ等を例示できる。

ここで用いられるプローブとしては、本発明遺伝子の 塩基配列に関する情報をもとにして化学合成された

15 DNA等が一般的に例示できるが、勿論既に取得された本発明遺伝子そのものやその断片等も良好に利用できる。

また、本発明遺伝子のスクリーニングは、上記特異抗体に代えてTSA305蛋白を利用した、蛋白質相互作用クローニング法(protein interaction cloning proc

20 edure)によることもでき、更に、本発明遺伝子の塩基配 列情報に基づき設定したセンス・プライマー、アンチセ ンス・プライマーをスクリーニング用プローブとして用 いたスクリーニング方法によることもできる。

本発明では、またディファレンシャルデイスプレイ法 (Liand P., et al., Science, <u>257</u>, 967-971 (1992)) によって、異なる条件下の細胞もしくは複数の異なる細胞 間のmRNAの発現を直接比較、検討することができる。

本発明遺伝子の取得に際しては、 P C R 法 [Science, 230: 1350 (1985)] による D N A / R N A 増幅法も好適に利用できる。 殊に、 ライブラリーから全長の c D N A が得られ難いような場合にはレース法(R A C E:

Rapid amplification of cDNA ends;実験医学、12(6): 35 (1994))、殊に5'-レース(5'-RACE)法 [Proc. Natl. Acad. Sci., USA., 8: 8998 (1988)]等 の採用が好適である。かかるPCR法の採用に際して使用されるプライマーは、既に本発明によって明らかにさ

15 用されるプライマーは、既に本発明によって明らかにされた本発明遺伝子の配列情報に基づいて適宜設定でき、 これは常法に従い合成できる。

尚、増幅させたDNA/RNA断片の単離精製は、前記の通り常法に従うことができ、例えばゲル電気泳動法等によればよい。

上記で得られる本発明遺伝子或は各種 DNA 断片は、 常法、例えばジデオキシ法 [Proc. Natl. Acad. Sci.,

20

USA., 74: 5463 (1977)] やマキサムーギルバート法 [Method in Enzymology, 65: 499 (1980)] 等に従って、また簡便には市販のシークエンスキット等を用いて、その塩基配列を決定することができる。

5 本発明遺伝子の利用によれば、一般の遺伝子工学的手法を用いることにより、その遺伝子産物を容易に大量に安定して製造することができる。従って、本発明は、本発明にかかるTSA305遺伝子を含有するベクター(発現ベクター)及び該ベクターによって形質転換された宿主細胞並びに該宿主細胞を培養してTSA305蛋白を製造する方法をも提供するものである。

該製造方法は、通常の遺伝子組換え技術 [Science,

224: 1431 (1984); Biochem. Biophys. Res. Comm.,

130: 692 (1985); Proc. Natl. Acad. Sci., USA., <u>80</u>: 5990 (1983)及び前記引用文献等参照〕に従って実施で

上記宿主細胞としては、原核生物及び真核生物のいずれも用いることができ、例えば原核生物の宿主としては、大腸菌や枯草菌といった一般的に用いられるものが広く挙げられ、好適には大腸菌、とりわけエシェリヒア・コリ(Escherichia coli) K12株に含まれるものが例示できる。また、真核生物の宿主細胞には、脊椎動物、酵

15

20

きる。

母等の細胞が含まれ、前者としては、例えばサルの細胞であるCOS細胞〔Cell, 23: 175 (1981)〕やチャイニーズ・ハムスター卵巣細胞及びそのジヒドロ葉酸レダクターゼ欠損株〔Proc. Natl. Acad. Sci., USA., 77: 4216 (1980)〕等が、後者としては、サッカロミセス属酵母細胞等が好適に用いられている。勿論、これらに限定される訳ではない。

原核生物細胞を宿主とする場合は、該宿主細胞中で複 製可能なベクターを用いて、このベクター中に本発明遺 伝子が発現できるように該遺伝子の上流にプロモーター 10 及びSD(シャイン・アンド・ダルガーノ)塩基配列、 更に蛋白合成開始に必要な開始コドン(例えばATG) を付与した発現プラスミドを好適に利用できる。上記べ クターとしては、一般に大腸菌由来のプラスミド、例え ばpBR322、pBR325、pUC12、pUC 15 13等がよく用いられるが、これらに限定されず既知の 各種のベクターを利用することができる。大腸菌を利用 した発現系に用い得る上記ベクターの市販品としては、 例えばpGEX-4T (Amersham Pharmacia Biotech社)、 pMAL-C2, pMA1-P2 (New England 20 Biolabs社)、pET21, pET21/lacq (Invitrogen社)、pBAD/His (Invitrogen社)

等を例示できる。

脊椎動物細胞を宿主とする場合の発現ベクターとして は、通常、発現しようとする本発明遺伝子の上流に位置 するプロモーター、RNAのスプライス部位、ポリアデ ニル化部位及び転写終了配列を保有するものが挙げられ、 これは更に必要により複製起点を有していてもよい。該 発現ベクターの例としては、具体的には例えばSV40 の初期プロモーターを保有するpSV2dhfr[Mol. Cell. Biol., <u>1</u>: 854 (1981)] 等が例示できる。上記以 外にも既知の各種の市販ベクターを用いることができる。 10 動物細胞を利用した発現系に利用されるかかるベクター の市販品としては、例えばpEGFP-N、pEGFP - C (Clontrech社)、 p I N D (Invitrogen社)、 p c D N A 3. 1 / H i s (Invitrogen社) 等の動物細 胞用ベクターや、pFastBac HT (GibciBRL社)、 15 pAcGHLT (PharMingen社), pAc5/V5-His, pMT/V5-His, pMT/Bip/V5 - h i s (以上Invitrogen社)等の昆虫細胞用ベクター 等が挙げられる。

また、酵母細胞を宿主とする場合の発現ベクターの具体例としては、例えば酸性ホスファターゼ遺伝子に対するプロモーターを有するpAM82 [Proc. Natl. Acad.

包含される。

Sci., USA., <u>80</u>: 1 (1983)] 等が例示できる。市販の酵母細胞用発現ベクターには、例えばpPICZ (Invitrogen社), pPICZ α (Invitrogen社) 等が

- プロモーターとしても特に限定なく、エッシェリヒア 属菌を宿主とする場合は、例えばトリプトファン(trp)プロモーター、1ppプロモーター、1acプロモーター、recA プロモーター、PL/PRプロモーター等を好ましく利用できる。宿主がバチルス属菌である場合は、SP01プロモータ
- 10 一、SP02プロモーター、penPプロモーター等が好ましい。 酵母を宿主とする場合のプロモーターとしては、例えば pH05プロモーター、PGKプロモーター、GAPプロモーター、 ADHプロモーター等を好適に利用できる。また、動物細胞 を宿主とする場合の好ましいプロモーターとしては、
- 15 S V 4 0 由来のプロモーター、レトロウイルスのプロモーター、メタロチオネインプロモーター、ヒートショックプロモーター、サイトメガロウイルスプロモーター、S R a プロモーター等を例示できる。

尚、本発明遺伝子の発現ベクターとしては、通常の融

20 合蛋白質発現ベクターも好ましく利用できる。 該ベクターの具体例としては、グルタチオン-S-トランスフェラーゼ(GST)との融合蛋白質として発現させるため

のpGEX(Promega社)等を例示できる。

所望の組換えDNA (発現ベクター)の宿主細胞への 導入方法・形質転換法にも特に制限はなく、一般的な各種方法を採用できる。また得られる形質転換体も、常法 に従い培養することができ、該培養により本発明遺伝子 によりコードされる目的のTSA305蛋白が発現・産生され、形質転換体の細胞内、細胞外若しくは細胞膜上に蓄積若しくは分泌される。

上記培養に用いられる培地としては、採用した宿主細 10 胞に応じて慣用される各種のものを適宜選択利用でき、 その培養も宿主細胞の生育に適した条件下で実施できる。 かくして得られる組換え蛋白(TSA305蛋白)は、 所望により、その物理的性質、化学的性質等を利用した 各種の分離操作従って分離、精製することができる

- 15 [「生化学データブックII」、1175-1259頁、第1版第1刷、1980年 6月23日株式会社東京化学同人発行; Bioche mistry, 25(25): 8274 (1986); Eur. J. Biochem., 163: 313 (1987) 等参照]。該方法としては、具体的には例えば通常の再構成処理、蛋白沈澱剤による処理(塩析法)、
- 20 遠心分離、浸透圧ショック法、超音波破砕、限外濾過、 分子篩クロマトグラフィー(ゲル濾過)、吸着クロマト グラフィー、イオン交換クロマトグラフィー、アフィニ

ティクロマトグラフィー、高速液体クロマトグラフィー (HPLC)等の各種液体クロマトグラフィー、透析法、 これらの組合せ等が挙げられ、特に好ましい上記方法と しては、本発明のTSA305蛋白の特異抗体を結合さ せたカラムを利用するアフィニティクロマトグラフィー を例示できる。

しかして、本発明は、例えば上記の如くして得られる、新規なTSA305蛋白自体をも提供するものである。 該蛋白は、前記のとおり、線虫のsel-1と高い相同 10 性を有し、各種癌に対して抑制的に働く作用を奏し得る ところから、医薬分野において有用である。

また、このTSA305蛋白は、該蛋白の特異抗体を作成する為の免疫抗原としても利用できる。ここで抗原として用いられるコンポーネントは、例えば上記遺伝子工学的手法に従って大量に産生された蛋白或はそのフラグメントであることができ、これら抗原を利用することにより、所望の抗血清(ポリクローナル抗体を収得することができる。該抗体の製造方法自体は、当業者によく理解されているところであり、本発明においてもこれら常法に従うことができる〔続生化学実験講座「免疫生化学研究法」、日本生化学会編(1986)等参照〕。

例えば、抗血清の取得に際して利用される免疫動物としては、ウサギ、モルモット、ラット、マウスやニワトリ等の通常動物を任意に選択でき、上記抗原を使用する免疫方法や採血等もまた常法に従い実施できる。

5 また、モノクローナル抗体の取得も、常法に従い、上記免疫抗原で免疫した動物の形質細胞(免疫細胞)と形質細胞腫細胞との融合細胞を作成し、これより所望抗体を産生するクローンを選択し、該クローンの培養により実施することができる。免疫動物は、一般に細胞融合に10 使用する形質細胞腫細胞との適合性を考慮して選択され、通常マウスやラット等が有利に用いられている。免疫は、上記抗血清の場合と同様であり、所望により通常のアジュバント等と併用して行なうこともできる。

尚、融合に使用される形質細胞腫細胞としても、特に 限定なく、例えば p 3 (p3/x63-Ag8) [Nature, 256: 495-497 (1975)]、 p 3 - U 1 [Current Topics in Microbiology and Immunology, 81: 1-7 (1978)]、 N S - 1 [Eur. J. Immunol., 6: 511-519 (1976)]、 M P C - 1 1 [Cell, 8: 405-415 (1976)]、 S P 2 / 0 [Nature, 276: 269-271 (1978)] 等、 ラットにおける R 2 1 0 [Nature, 277: 131-133 (1979)] 等及びそれらに由来する細胞等の各種の骨髄腫細胞をいずれも使用で

きる。

5

上記免疫細胞と形質細胞腫細胞との融合は、通常の融合促進剤、例えばポリエチレングリコール(PEG)やセンダイウイルス(HVJ)等の存在下に公知の方法に準じて行なうことができ、所望のハイブリドーマの分離もまた同様に行ない得る(Meth. in Enzymol., 73:3 (1981);上記続生化学実験講座等)。

また、目的とする抗体産生株の検索及び単一クローン

化も常法により実施され、例えば抗体産生株の検索は、 10 上記の本発明抗原を利用したELISA法 [Meth. in Enzymol., 70: 419-439 (1980)]、プラーク法、スポット法、凝集反応法、オクテロニー (Ouchterlony) 法、ラジオイムノアッセイ等の一般に抗体の検出に用いられている種々の方法に従い実施することができる。

 かくして得られるハイブリドーマからの本発明抗体の 採取は、該ハイブリドーマを常法により培養してその培養上清として得る、また、ハイブリドーマをこれと適合性のある哺乳動物に投与して増殖させその腹水として得る方法等により実施される。前者の方法は、高純度の抗な・
 なを得るのに適しており、後者の方法は、抗体の大量生産に適している。このようにして得られる抗体は、更に塩析、ゲル濾過、アフィニティクロマトグラフイー等の 通常の手段により精製することができる。

かくして得られる抗体は、本発明のTSA305蛋白に結合性を有することによって特徴付けられ、これは、前述したTSA305蛋白の精製及びその免疫学的手法 による測定乃至識別等に有利に利用できる。本発明は、 かかる新規な抗体をも提供するものである。

また、本発明によって明らかにされた本発明遺伝子の 配列情報を基にすれば、例えば該遺伝子の一部又は全部 の塩基配列を利用することにより、個体もしくは各種組 織における本発明遺伝子の発現の検出を行うことができ る。

かかる検出は常法に従って行うことができ、例えばRT-PCR [Reverse transcribed-Polymerase chain reaction; E.S. Kawasaki, et al., Amplification of RNA. In PCR Protocol, A Guide to methods and applications, Academic Press, Inc., SanDiego, 21-27 (1991)] によるRNA増幅やノーザンブロット解析 [Molecular Cloning, Cold Spring Harbor Lab. (1989)]、in situ RT-PCR [Nucl. Acids Res., 21: 3159-3166 (1993)] や in situ ハイブリダイゼーション等の 細胞レベルでのそれら測定、NASBA法 [Nucleic acid sequence-based amplification, Nature, 350: 91

-92 (1991)〕及びその他の各種方法によりいずれも良好に実施し得る。

尚、RT-PCR法を採用する場合において、用いられるプライマーは、本発明遺伝子のみを特異的に増幅できる該遺伝子特有のものである限り何等限定されず、本発明の遺伝情報に基いてその配列を適宜設定することができる。通常、これは20~30ヌクレオチド程度の部分配列を有するものとすることができる。

このように、本発明は、本発明にかかるTSA305 10 遺伝子の検出用の特異プライマー及び/又は特異プロー ブとして使用されるDNA断片をも提供するものである。

図面の簡単な説明

図1は実施例1の(2)に従うノーザンプロット分析により調べた本発明遺伝子のヒト組織における分布を示す図 15 面代用写真である。

図 2 は実施例 1 の (4)に従う、正常膵臓細胞(ノーマル、Normal)、4種の細胞株(Cell line)をRT-PCR分析した結果を示す図面代用写真であり、上段はTSA305の結果を、下段はコントロールとしての β 2-ミクログロブリンの結果を示す。

図3は実施例1の(5)に従う、膵癌サンプルその他を RT-PCR分析した結果を示す図面代用写真であり、

上段はTSA305の結果を、下段はコントロールとしてのβ2-ミクログロブリンの結果を示す。

発明を実施するための最良の形態

以下、本発明を更に詳しく説明するため、実施例を挙

5 げる。

実施例1

(1-1) [α-³³P] ATPで標識した表出方法

組織特異的な手法において発現したヒト遺伝子を確認するために〔α-³³P〕 ATPで標識した表出方法を用いた。該方法の手順は本質的に以下に示すリアングの方法(Liang P., et al., Science, 257, 967-971 (1992))によって行なった。

即ち、13のヒト組織(成人脳、胎児脳、肺、肝臓、胃、膵臓、脾臓、乳、膀胱、胎盤、睾丸、腎臓及び心臓15 : クローンテック社製)の各々から単離したポリA RNA (0.2 μg)を、ジエチルピロカーボネート処理された水の8μ1中で3'-アンカード・オリゴ d T プライマーG (T) 15 MA (MはG、A及びCの混合液である)の25pmolと混合し、65℃で5分間加熱した。この溶液に4μ1の5×ファースト・ストランド緩衝液(BRL社製)、2μ1の0.1M DTT (BRL社製)、1μ1の250mM dNTPs (BRL社製)、1μ1

のリボヌクレアーゼ・インヒビター(40単位;TOYOBO 社製)及び 1μ 1のスーパースクリプトII逆転写酵素 (200単位;BRL社製)を加えた。各反応液の最終 容量は 20μ 1であった。各溶液を37℃で1時間培養 した後、 30μ 1の蒸留した水の付加により 2. 5倍ま でに希釈し、使用時まで-20℃で貯蔵した。

c D N A は、〔α-³³P〕 A T P で標識した(アマシャ ム社製) 3' -アンカード・プライマーの存在下で PCRによって増幅した。 この c D N A の P C R 増幅は、 以下のとおり実施された。即ち、各20μ1のPCR混 10 合液は、2μ1のRT反応混合液、2μ1の10× P C R 緩衝液 (タカラ社製)、 4 μ l の 2. 5 m M dNTPs、0. 25μlのEx Taq DNAポリメラ ーゼ (5単位/ml:タカラ社製)、〔α-^{3 9} P] A T P で標識した 2 5 pmolの 3' - アンカード・オリゴー d T 15 プライマー及び25 pmolの5' - プライマー(No. 20、 配列番号:4に示す塩基配列の任意配列を有する10m e r デオキシオリゴヌクレオチド・プライマー) を含 んでいた。また、PCR反応は以下の条件で行なった。 即ち、95℃で3分間、40℃で5分間及び72℃で5 20 分間を1サイクルとして行ない、それから95℃で

0. 5分間、40℃で2分間及び72℃で1分間を40

サイクル行ない、最後に72℃で5分間反応させた。

PCR反応サンプルをエタノールで抽出し、フォルム アミド・シークエンシング染料中に再懸濁して、6%ア クリルアミド7. 5 M ウレア・シークエンシング・ゲル

- 5 上で反応させた。ゲルは固定することなしに乾燥させ、 一晩オートラジオグラフィーを実施した。
 - (1-2) 増幅された c D N A 断片のサブ・クローニング

予め乾燥ゲルを載せた 3 M M 濾紙上にラジオアクティフィンクで印を付けておき、これとオートラジオグラム をあわせることにより、目的の c D N A を含むバンドが含まれるゲルを、 3 M M 濾紙ごと切り出した後、 3 0 0 μ 1 の d H 2 O に て 1 時間攪拌した。ポリアクリルアミド・ゲルと濾紙を取り除いた後、 c D N A を担体として 1 μ 1 の 1 0 m g / m 1 グリコーゲンと 0. 3 M NaOAcの存在下、エタノール沈澱によって再回収し、10 μ 1 のd H 2 O に再溶解した。再増幅のために、5 μ 1 のこの溶液が用いられた。 P C R の条件とプライマーは最初の

産物を第一のPCR産物として再回収し、それからその
20 PCR産物をpUC118ベクター(タカラ社製)のHinc II部位
にクローンニングした。 核酸配列はABI377自動シークエンサー (アプライド・バイオ・システムズ社製)

PCRに対してと同じであった。 適当な大きさの再増幅

10

によって決定した。

上記方法にて、13のヒト組織から単離したmRNAを用いて異なる表出パターンを比較した結果、 膵臓に特異的に発現した一つのPCR産物を確認した。 これをTSA305と命名した。

この産物は、371ヌクレオチドからなっていた。 FASTAプログラム(Person W. R., et al., Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 85, 2444-2448 (1988))を使用するGenBanck/EMBLデータ・ベース中のDNA配列とこのヌクレオチド・データとの比較より、このPCR産物が他の如何なる公知のDNA配列と相同性がないことが明らかとなった。

(1-3) c D N A の ス ク リ ー ニ ン グ

ヒト正常膵臓 c D N A ライブラリーは、オリゴ(dT)
15 +ランダムヘキサマーープライムド・ヒト正常膵臓
c D N A と U n i - Z A P [™] X R (ストラタジーン社製)
を用いて、構築した。 1 × 1 0 [®]個のクローンの全体を上記方法によって単離し、〔α-³²P〕 - d C T P にて標識された c D N A 断片を用いてそのスクリーニングを行なった。陽性クローンを選択し、それらの挿入 c D N A 部をpBluescript II SK(-)中のイン・ビボに切り出した。その結果、T S A 3 0 5 に対して約 1 0 0 のプラーク

が確認された。この結果より、全RNA間の転写量は、 およそ 0. 0 1%であると計算された。TSA305に 相同する集合したcDNA配列(TSA305)は、計 算された分子量 8 8 7 6 8 D a を有する 7 9 4 アミノ酸 の蛋白をコードする 2 3 8 2 ヌクレオチドのオープン・ リーディング・フレームを含む 7 8 8 5 ヌクレオチドを 含んでいた。

一次配列からこの遺伝子の産物(TSA305蛋白)は、フィブロネクチンType IIコラーゲン結合ドメインを含む蛋白であることが明らかとなった。

その染色体上の位置は、インスリン依存性糖尿病 (IDDM)の原因遺伝子が存在するとされる第14染 色体 q 24. 3-q31. 1であった。

また、本発明遺伝子TSA305は、線虫のsel-15 1と高いホモロジーを有していた。

(2) 組織における発現

組織におけるTSA305の発現プロファイルを調べるため、各種のヒト組織を用いたノーザンブロット分析を行った。

20 ノーザン・プロツト分析には、ヒトMTN(Multiple-Tissue Northern)プロットIとII(クローンテック社製)を使用した。 cDNA断片は、T3とT7プロモーター

配列のプライマー・セットを用い、PCRによって〔α - ³²P〕 - d C T Pで標識した。 増幅産物を含むメンブ ランをプレハイブリダイズ(条件は製品のプロトコール に従った)し、そしてそれから製品のプロトコールに従 い、ハイブリダイゼーションを行なった。

ハイブリダイゼーション後、洗浄した膜を-80℃で 24時間オートラジオグラフに露光した。その結果は図 1に示すとおりである。

該図において、用いたヒト組織は、心臓(Heart)、脳
10 (brain)、睾丸(Placenta)、肺(Lung)、肝臓(Liver)、骨格筋(Skeletal muscle)、腎臓(Kidney)、膵臓(Pancreas)、脾臓(Spleen)、胸腺(Thymus)、膀胱(Prostate)、胎盤(Testis)、卵巣(Ovary)、小腸(Small intestine)、結腸(Colon)及び末梢血白血球(Peripheral blood leukocyte)
15 である。

該図より、TSA305に相同する転写体が膵臓 (Pancreas)において特異的に観察された。

(3) F I S H

染色体の整列のためのFISHは、公知の方法
20 (Takahashi E., et al., Hum. Genet., <u>86</u>, 14-16
(1990))に従って、各コスミドDNAの 0. 5 μ g をプローブとして使用して実施した。FISHはプロビア

1 0 0 フィルム (フジ社製、ISO100) 又はCCD カメラ・システム (アプライド・イメージング、サイト ビジョン社製) によって捕えられた。

その結果、100の典型的なR-バンド(前)分裂中期 の細胞を試験したシグナルは、第14染色体のバンドロ 24.3-q31.1に局在していた。従って、TSA 305染色体の局在部位は、14q24.3-q31.1 と同定できた。

(4) RT-PCR分析による膵臓癌細胞株と膵臓癌組織 10 における転写物の発現

TSA305遺伝子の発現がヒト膵臓癌細胞株と膵臓癌組織において変異するかどうかを調べるために、4つの細胞株 (Aspcl (転移性腺癌, J. Natl. Cancer Inst., 67, 563-569 (1981)), Bxpc3 (腺癌・未分化, Cancer Invest., 4, 15-23 (1986)), MiaPaca2 (腺癌, Int. J. Cancer, 19, 128-135 (1977)) 及びPANC1 (類上皮性、膵管癌, Int. J. Cancer, 15, 741-747 (1975)) と 9の膵臓の癌組織 (東京大学医科研究所、中村先生より供与)のRT-PCR分析を行なった。

20 即ち、全RNAをISOGEN(和光社製)を使用して細胞株と膵臓癌組織から単離した 1 0 μ 1 の全RNAを10単位のRNase I (ベーリン

ガー・マインハイム社製)で15分間処理し、フェノールークロロフォルムで2回抽出し、エタノールで沈澱させた。一本鎖cDNAをオリゴd(T)とランダムプライマーを使用してSuperscript ITM RNaseH-逆転写酵素(ライフ・テクノロジー社製)によって合成した。 2μ1の各産物をPCR増幅のために用いた。

配列番号:5及び配列番号:6として示す塩基配列のプライマーP1及びP2Sを、25サイクルのPCR増幅のために使用した。

- 尚、PCR反応は25ngcDNA、10μM各プライマー、2.5mM dNTP及び0.25UのExtaq DNAポリメラーゼ(タカラ社製)を含む20μ1溶液中で行なった。PCR産物は、エチジウム・ブロマイト染色した1.5%アガロースゲル中に溶解させた。
- 上記に従い、 4 種の細胞株 (レーン 1 = Aspc1, レーン 2 = Bxpc3, レーン 3 = MiaPaca2, レーン 4 = PANC1) と 正常膵臓組織 (Normal Pancreas、レーン 5) をRT P C R 分析した結果は、図 2 に示す通りである。尚、図 の上段は T S A 3 O 5 の結果を、下段はコントロールと しての β 2 ミクログロブリン (β 2 microglobulin) の 結果を示す。

該図より、TSA305発現は、全ての癌組織におい

ては見当らず、正常膵臓組織(レーン5参照)にのみ認められることが判った。

- (5) 膵癌におけるTSA305遺伝子の発現(RT-PCR)
- TSA305遺伝子の発現を、膵癌患者サンプル(1T、2T、3T、5T、6T、7T、10T及び11T)、 膵癌(Tumor Pancreas)及び正常膵(Invitrogen社; Human Normal Pancreas)並びに同一患者膵臓の癌部 (23T)及び非癌部(23N)につき、以下の通り、
 RT-PCR法により検出した。

各サンプルよりmRNAを抽出し、TSA305の 1581-2382bp(801塩基対)をRT-PCRにて増幅させ、発現の有無を検出した。濃度コントロールとしてβ2-ミクログロブリン(microglobulin)を用いた。結果を図3に示す。

該図より、正常膵臓の発現に比べて、膵臓癌サンプル全例においてTSA305遺伝子の発現の低下或いは欠損が観察された。

産業上の利用可能性

20 本発明によれば新規な膵臓特異的遺伝子TSA305 及びこれによりコードされる蛋白が提供され、これらの 利用により、膵臓癌等の癌や癌化の解明、その診断、予

防及び治療等に有用な技術が提供される。

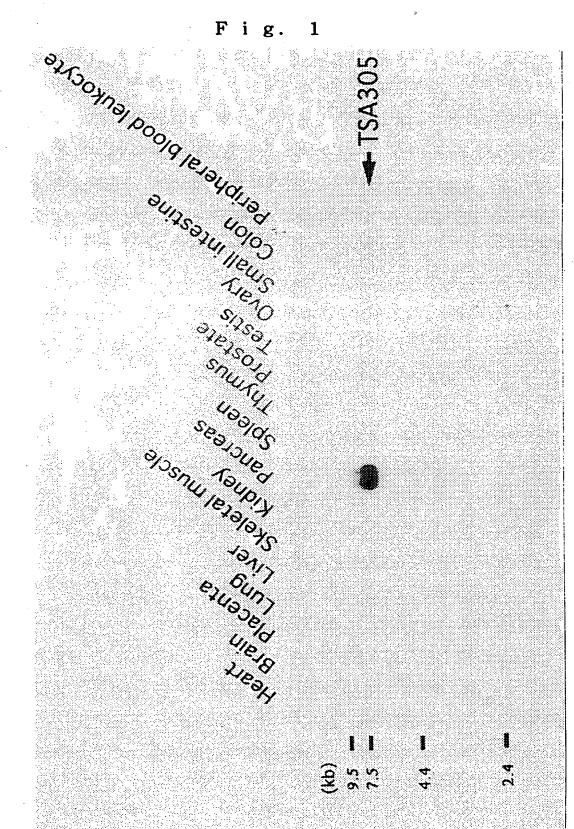
5

10

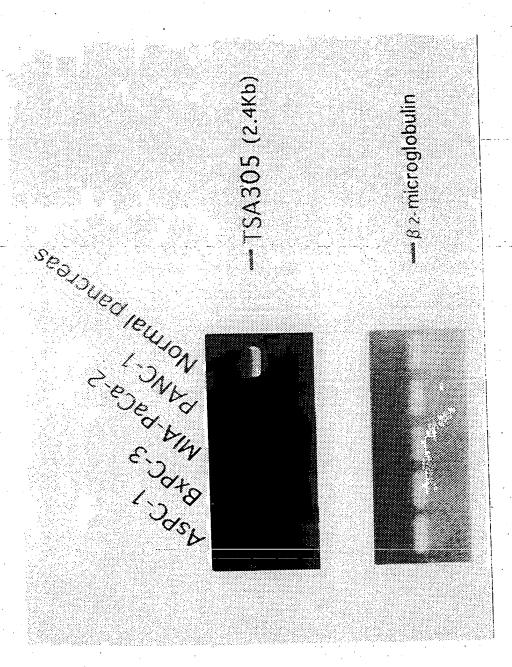
15

請求の範囲

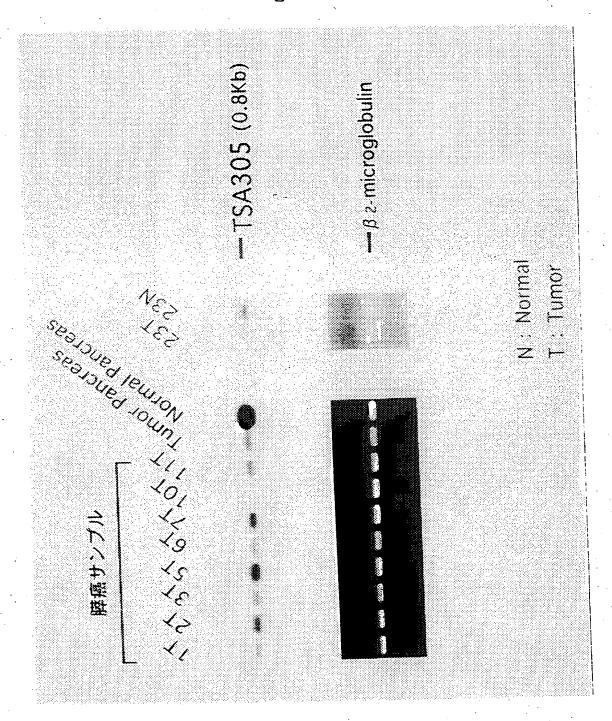
- 1. 配列番号:1で示されるアミノ酸配列からなる蛋白質をコードする塩基配列を含む膵臓特異的遺伝子。
- 2. ヒト遺伝子である請求の範囲第1項に記載の遺伝子。
- 5 3. 塩基配列が配列番号:2で示されるものである請求の範囲第1項に記載の遺伝子。
 - 4. ヒト遺伝子である請求の範囲第3項に記載の遺伝子。
 - 5. 以下の(a)及び(b)のいずれかのポリヌクレオ チドからなる膵臓特異的遺伝子:
- 10 (a)配列番号:2で示される塩基配列の全部又は一部を含むポリヌクレオチド、
 - (b)配列番号:2で示される塩基配列からなるDNA とストリンジェントな条件下でハイブリダイズするポ リヌクレオチド。
- 15 6. ヒト遺伝子である請求の範囲第5項に記載の遺伝子。
 - 7. 請求の範囲第1項に記載の膵臓特異的遺伝子の検出 用の特異プローブ又は特異プライマーとして使用され るDNA断片である請求の範囲第5項に記載の遺伝子。
 - 8. 配列番号:1で示されるアミノ酸配列からなる膵臓 20 特異的蛋白質。
 - 9. 請求の範囲第8項に記載の膵臓特異的蛋白質に結合性を有する抗体。



F i g. 2



F i g. 3



差替え用紙(規則26)

110

1/15

配列	攴
----	---

SEQUENCE LISTING (110) Otsuka Pharmaceutical Co., Ltd. <120> TSA305 gene <130> P98-53 <150> JP H9-3433789 and H10-126803 <151> 1997-11-28 and 1998-4-20 <160> 6 <170> PatentIn Ver. 2.0 <210> 1 <211> 794 <212> PRT <213> human nomal pancreas cDNA library **<400>** 1 Met Arg Val Arg Ile Gly Leu Thr Leu Leu Cys Ala Val Leu Leu - 15 10 1 Ser Leu Ala Ser Ala Ser Ser Asp Glu Glu Gly Ser Gln Asp Glu Ser 30 25 20 Leu Asp Ser Lys Thr Thr Leu Thr Ser Asp Glu Ser Val Lys Asp His 45 40 35 Thr Thr Ala Gly Arg Val Val Ala Gly Gln Ile Phe Leu Asp Ser Glu 60 50 Glu Ser Glu Leu Glu Ser Ser Ile Gln Glu Glu Glu Asp Ser Leu Lys 80 **75** 70 65 Ser Gln Glu Gly Glu Ser Val Thr Glu Asp Ile Ser Phe Leu Glu Ser 95 90 85 Pro Asn Pro Glu Asn Lys Asp Tyr Glu Glu Pro Lys Lys Val Arg Lys

105

100

Pro	Ala	Leu	Thr	Ala	Ile	Glu	Gly	Thr	Ala	His	GLY	GIU	rro	Cys	nis
		115					120					125			
Phe	Pro	Phe	Leu	Phe	Leu	Asp	Lys	Glu	Tyr	Asp	Glu	Cys	Thr	Ser	Asp
	130	• .				135		•			140		. •		
Gly	Arg	G1u	Asp	Gly	Arg	Leu	Trp	Cys	Ala	Thr	Thr	Tyr	Asp	Tyr	Lys
145					150					155					160
Äla	Asp	Glu	Lys	Trp	Gly	Phe	Cys	Glu	Thr	Glu	Glu	Glu	Ala	Ala	Lys
				165					170					175	
Arg	Arg	Gln	Met	Gln	Glu	Ala	Glu	Met	Met	Tyr	Gln	Thr	Gly	Met	Lys
			180					185					190		
Ile	Leu	Asn	Gly	Ser	Asn	Lys	Lys	Ser	Gln	Lys	Arg	Glu	Ala	Tyr	Arg
	•	195					200			•		205			
Тут	Leu	ı Glr	Lys	s Ala	Ala	Ser	Met	Asn	His	Thr	Lys	Ala	Leu	Glu	Arg
	210					215					220		' .	•	
Va:	l Se	r Ty	r Ala	a Leu	Leu	Phe	Gly	, yet	у Туг	Leu	ı Pro	Glr	ı Asr	ı Ile	Gln
22					230					235					240
Ala	a Al	a Ar	g Gl	u Mej	Phe	e Glu	ı Lys	Lei	ı Thi	r Gl	u Gli	Gl د	y Se		Lys
		•		245					25		•	,		25	
. G1	y Gl	n Th	r Al	a Lei	u Gl	y Ph	e Le	ı Ty	r Al	a Se	r Gl	y Le			l Asn
			26					26				•	27		
Se	r Se	r Gl	n Al	a Ly	s Al	a Le	u Va	l Ty	r Ty	r Th	r Ph			a Le	u Gly
	•	. 27					28					28			•
G]	y As	sn Le	eu II	le Al	a Hi	s Ne	t Va	1 Le	u Gl	у Ту			r Tr	p Al	a Gly
		90				29					30		_		
I	le G	ly Va	al L	eu Gl	n Se	er Cy	rs G1	u Se	er Al	la Le	eu Ti	nr Hi	is Ty	r Ai	g Leu
	05				31						15		,	,	320
V	al A	la A	sn H	is Va	al A	la S	er As	sp [I]	le S	er L	eu T	hr G	ly G	ly Se	er Val
					25					30					35
V	al G	ln A	rg I	le A	rg L	eu P	ro A	sp G	lu V	al G	lu A	sn P	ro G	ly M	et Asn

			340					345					350		
Ser	Gly	Met	Leu	Glu	Glu	Asp	Leu	Ile	Gln	Tyr	Tyr	Gln	Phe	Leu	Ala
• .		355				•	360	:	•			365		•	
Glu	Lys	Gly	Asp	Val	Gln	Ala	Gln	Val	Gly	Leu	Gly	Gln	Leu	His	Leu
	370		•			375					380			•	:
His	Gly	Gly	Arg	Gly	Val	Glu	G ln	Asn	His	Gln	Arg	Ala	Phe	Asp	Tyr
385					390					395		r* ·			400
Phe	Asn	Leu	Ala	Ala	Asn	Ala	Gly	Asn	Ser	His	Aľa	Met	Ala	Phe	Leu
				405					410			f ,		415	
Gly	Lys	Met	Tyr	Ser	Glu	Gly	Ser	Asp	Ile	Val	Pro	Gln	Ser	Asn	G1u
		,	420	. 25		•	٠.	425	. •				430		
Thr	Ala	Leu	His	Tyr	Phe	Lys	Lys	Ala	Ala	Asp	Met	Gly	Asn	Pro	Val
• •		435				• :	440					445		,	
Gly	Ğln	Ser	Gly	Leu	Gly	Met	Ala	Tyr	Leu	Tyr	Gly	Arg	Gly	Val	Gln
	450					45 5			•		460				
Val	Asn	Tyr	Asp	Leu	Ala	Leu	Lys	Tyr	Phe	Gln	Lys	Ala	Ala	Glu	Gln
465					470				*.	475		• • •			480
Gly	Trp	Val	Asp	Gly	Gln	Leu	Gln	Leu	Gly	Ser	Met	Tyr	Tyr	Asn	Gly
				485	*				490				•	495	
Ile	Gly	Val	Lys	Arg	Asp	Tyr	Lys	Gln	Ala	Leu	Lys	Tyr	Phe	Asn	Leú
	1 7		500	٠.		••		505		•			510		
Ala	Ser	Gln	Gly	Gly	His	Ile	Leu	Ala	Phe	Tyr	Asn	Leu	Ala	Gln	Net
		515			• - 1, •		520					525		• • • •	
His	Ala	Ser	Gly	Thr	Gly	Val	Met	Arg	Ser	Cys	His	Thr	Ala	Val	Glu
•	530					535					540				
Leu	Phe	Lys	Asn	Val	Cys	G1u	Arg	Gly	Arg	Trp	Ser	Glu	Arg	Leu	Met
545				•	550	,				555					560
Thr	Ala	Tyr	Asn	Ser	Tyr	Lys	Asp	Gly	Asp	Tyr	Asn	Ala	Ala	Val	Πle
				565	1 1 1				570)		*		575	

Gln	Tyr	Leu	Leu	Leu	Ala	Glu	G1n	Gly	Tyr	Glu	Val	Ala	Gln	Ser	Asn
			580	-			•	585			•		590		
Ala	Ala	Phe	Ile	Leu	Asp	Gln	Arg	Glu	Ala	Ser	Ile	Val	Gly	Glu	Asn
		595			•		600	•			•	605			
Glu	Thr	Tyr	Pro	Arg	Ala	Leu	Leu	His	Trp	Asn	Arg	Aĺa	Ala	Ser	Gln
	610					615				•	620				
Gly	Tyr	Thr	Val	Ala	Arg	Ile	Lys	Leu	Gly	Asp	Tyr	His	Phe	Tyr	Gly
625					630			· 4	•	635					640
Phe	Gly	Thr	Asp	Val	Asp	Tyr	Glu	Thr	Ala	Phe	Ile	His	Tyr	Arg	Leu
				645			•		650	٠			•	655	
Ala	Ser	Glu	Gln	Gln	His	Ser	Ala	Gln	Ala	Met	Phe	Asn	Leu	Gly	Tyr
			660					665					670		
Met	His	Glu	Lys	Gly	Leu	Gly	Ile	Lys	Gln	Asp	Ile	His	Leu	Ala	Lys
		675					680	•				685			
Arg	Phe	Tyr	Asp	Met	Ala	Ala	Glu	Ala	Ser	Pro	Asp	Ala	Gln	Val	Pro
	690	,				695					700			•	•
Val	Phe	Leu	Ala	Leu	Cys	Lys	Leu	Gly	Val	Val	Tyr	Phe	Leu	G1n	Tyr
705	j				710					715	•	•			720
Πe	e Arg	Glu	Thr	. Asn	Ile	Arg	Asp	Met	Phe	Thr	Gln	Leu	Asp	Met	Asp
		*		725	j				730)	`			735	,
Gl	ı Lei	Leu	ı Gly	Pro	Glu	Trp	Asp	Leu	Tyr	Leu	Met	Thr	Ile	: Ile	Ala
			740)				745	•				750)	
Lei	u Lei	ı Lei	u Gly	y Thi	· Val	Ile	Ala	Tyr	Arg	g Glr	ı Arg	g Glr	ı His	Glr	ı Ası
		. 75	5				760)			٠	769	5		
Мe	t Pro	o Ala	a Pro	o Arg	g Pro	Pro	o Gly	Pro) Arg	g Pro) Ala	a Pro	o Pro	Glı	n Glr
	77	0				779	5				780	0	i	•	
G1	u Gl	y Pr	o Pr	o Gl	u Gl	n Gl	n Pro) Pro	o Gli	n		ŕ			
78	5				79	D				•		•	• .	•	

(210)	2	
<211>	2382	

<212> DNA

(213) human nomal pancreas cDNA library

<400> 2

atgcgggtcc ggatagggct gacgctgctg ctgtgtgcgg tgctgctgag cttggcctcg 60 gcgtcctcgg atgaagaagg cagccaggat gaatccttag attccaagac tactttgaca 120 tcagatgagt cagtaaagga ccatactact gcaggcagag tagttgctgg tcaaatattt 180 cttgattcag aagaatctga attagaatcc tctattcaag aagaggaaga cagcctcaag 240 agccaagagg gggaaagtgt cacagaagat atcagctttc tagagtctcc aaatccagaa 300 aacaaggact atgaagagcc aaagaaagta cggaaaccag ctttgaccgc cattgaaggc 360 acagcacatg gggagccctg ccacttccct tttcttttcc tagataagga gtatgatgaa 420 tgtacatcag atgggaggga agatggcaga ctgtggtgtg ctacaaccta tgactacaaa 480 gcagatgaaa agtggggctt ttgtgaaact gaagaagagg ctgctaagag acggcagatg 540 caggaagcag aaatgatgta tcaaactgga atgaaaatcc ttaatggaag caataagaaa 600 agccaaaaaa gagaagcata tcggtatctc caaaaggcag caagcatgaa ccataccaaa 660 gccctggaga gagtgtcata tgctctttta tttggtgatt acttgccaca gaatatccag 720 780 gcagcgagag agatgtttga gaagctgact gaggaaggct ctcccaaggg acagactgct cttggctttc tgtatgcctc tggacttggt gttaattcaa gtcaggcaaa ggctcttgta 840 tattatacat ttggagctct tgggggcaat ctaatagccc acatggtttt gggttacaga 900 tactgggctg gcatcggcgt cctccagagt tgtgaatctg ccctgactca ctatcgtctt 960 gttgccaatc atgttgctag tgatatctcg ctaacaggag gctcagtagt acagagaata 1020 cggctgcctg atgaagtgga aaatccagga atgaacagtg gaatgctaga agaagatttg 1080 attcaatatt accagttcct agctgaaaaa ggtgatgtac aagcacaggt tggtcttgga 1140 caactgcacc tgcacggagg gcgtggagta gaacagaatc atcagagagc atttgactac 1200 ttcaatttag cagcaaatgc tggcaattca catgccatgg cctttttggg aaagatgtat 1260 teggaaggaa gtgacattgt accteagagt aatgagacag etetecacta etttaagaaa 1320 gctgctgaca tgggcaaccc agttggacag agtgggcttg gaatggccta cctctatggg 1380 agaggagttc aagttaatta tgatctagcc cttaagtatt tccagaaagc tgctgaacaa 1440

ggctgggtgg	atgggcagct	acagcttggt	tccatgtact	ataatggcat	tggagtcaag	1500
agagattata	aacaggcctt	gaagtatttt	aatttagctt	ctcagggagg	ccatatcttg	1560
gctttctata	acctagetea	gatgcatgcc	agtggcaccg	gcgtgatgcg	atcatgtcac	1620
actgcagtgg	agttgtttaa	gaatgtatgt	gaacgaggcc	gttggtctga	aaggcttatg	1680
actgcctata	acagctataa	agatggcgat	tacaatgctg	cagtgatcca	gtacctcctc	1740
ctggctgaac	agggctatga	agtggcacaa	agcaatgcag	cctttattct	tgatcagaga	1800
gaagcaagca	ttgtaggtga	gaatgaaact	tatcccagag	ctttgctaca	ttggaacagg	1860
gccgcctctc	aaggctatac	tgtggctaga	attaagctcg	gagactacca	tttctatggg	1920
tttggcaccg	atgtagatta	tgaaactgca	tttattcatt	accgtctggc	ttctgagcag	1980
caacacagtg	cacaagctat	gtttaatctg	ggatatatgc	atgagaaagg	actgggcatt	2040
aaacaggata	ttcaccttgc	gaaacgtttt	tatgacatgg	cagctgaagc	cagcccagat	2100
gcacaagttc	cagtcttcct	agccctctgc	aaattgggcg	tcgtctattt	cttgcagtac	2160
atacgggaaa	caaacattcg	agatatgttc	acccaacttg	atatggacca	gcttttggga	2220
cctgagtggg	acctttacct	catgaccatc	attgcgctgc	tgttgggaac	agtcatagct	2280
tacaggcaaa	ggcagcacca	agacatgcct	gcacccaggc	ctccagggcc	acggccagct	2340
ccaccccagc	aggaggggcc	accagagcag	cagccaccac	ag		2382
				** .		-

<210> 3

<211> 7885

<212> DNa

<213> human nomal pancreas cDNA library

<220>

<221> cDS

(222) (46)..(2428)

(400) 3

gcgaaggcga cagctctagg ggttggcacc ggccccgaga ggagg atg cgg gtc 54

Met Arg Val

1

cgg ata ggg ctg acg ctg ctg tgt gcg gtg ctg ctg agc ttg gcc 102

was to the Complex Alexander	
arg Ile Gly Leu Thr Leu Leu Ceu Cys Ala Val Leu Leu Ser Leu Ala	•
5 10 15	
tcg gcg tcc tcg gat gaa gaa ggc agc cag gat gaa tcc tta gat tcc	150
Ser Ala Ser Ser Asp Glu Glu Gly Ser Gln Asp Glu Ser Leu Asp Ser	• • •
20 25 30 35	
aag act act ttg aca tca gat gag tca gta aag gac cat act act gca	198
Lys Thr Thr Leu Thr Ser Asp Glu Ser Val Lys Asp His Thr Thr Ala	
40 45 50	
ggc aga gta gtt gct ggt caa ata ttt ctt gat tca gaa gaa tct gaa	246
Gly Arg Val Val Ala Gly Gln Ile Phe Leu Asp Ser Glu Glu Ser Glu	· ·
55 60 65	
tta gaa tcc tct att caa gaa gag gaa gac agc ctc aag agc caa gag	294
Leu Glu Ser Ser Ile Gln Glu Glu Glu Asp Ser Leu Lys Ser Gln Glu	
70 75 80	*
ggg gaa agt gtc aca gaa gat atc agc ttt cta gag tct cca aat cca	342
Gly Glu Ser Val Thr Glu Asp Ile Ser Phe Leu Glu Ser Pro Asn Pro	•
85 90 95	
gaa aac aag gac tat gaa gag cca aag aaa gta cgg aaa cca gct ttg	390
Glu Asn Lys Asp Tyr Glu Glu Pro Lys Lys Val Arg Lys Pro Ala Leu	
100 105 110	
acc gcc att gaa ggc aca gca cat ggg gag ccc tgc cac ttc cct ttt	438
Thr Ala Ile Glu Gly Thr Ala His Gly Glu Pro Cys His Phe Pro Phe	
120 125 130	a projection of
ctt ttc cta gat aag gag tat gat gaa tgt aca tca gat ggg agg gaa	486
Leu Phe Leu Asp Lys Glu Tyr Asp Glu Cys Thr Ser Asp Gly Arg Glu	western and
135 140 145	
gat ggc aga ctg tgg tgt gct aca acc tat gac tac aaa gca gat gaa	53
Asp Gly Arg Leu trp Cys Ala Thr Thr Tyr Asp Tyr Lys Ala Asp Glu	
160	
150	

aag	tgg	ggc	ttt	tgt	gaa	act	gaa	gaa	gag	gct	gct	aag	aga	cgg	cag	582	
Lys	Trp	Gly	Phe	Cys	Glu	Thr	Glu	Glu	G1u	Ala	Ala	Lys	Arg	Arg	Gln		
	165					170					175				٠.		
atg	cag	gaa	gca	gaa	atg	atg	tat	caa	act	gga	atg	aaa	atc	ctt	aat	630	
Met	Gln	Glu	Ala	Glu	Met	Net	Tyr	Gln	Thr	Gly	Met	Lys	lle	Leu	Asn		
180					185					190					195		
gga	agc	aat	aag	aaa	agc	caa	aaa	aga	gaa	gca	tat	cgg	tat	ctc	caa	678)
Gly	Ser	Asn	Lys	Lys	Ser	Gln	Lys	Arg	Glu	Ala	Tyr	Arg	Tyr	Leu	Gln		
				200					205		÷			210			
aag	gca	gca	agc	atg	aac	cat	acc	aaa	gcc	ctg	gag	aga	gtg	tca	tat	726	;
Lys	Ala	Ala	Ser	Met	Asn	His	Thr	Lys	Ala	Leu	Glu	Arg	·Val	Ser	Tyr		
			215					220					225		٠		•
gct	ctt	tta	ttt	ggt	gat	tac	ttg	cca	cag	aat	ato	cag	gca	gcg	aga	774	ł
Ala	Leu	Leu	Phe	Gly	Asp	Tyr	Leu	Pro	Gln	Asn	Ile	Gln	Ala	Ala	Arg		
		230					235					240			•		
gag	atg	ttt	gag	aag	ctg	act	gag	gaa	ggc	tct	ccc	aag	gga	cag	act	823	2
Glu	Met	Phe	Glu	Lys	Leu	Thr	Glu	Glu	Gly	Ser	Pro	Lys	Gly	Gln	Thr	13	
	245	į				250					255	j		* . *	· . ·	: · ·	•
gct	ctt	ggc	ttt	ctg	tat	gcc	tct	gga	ctt	ggt	gt1	aat	tca	agt	cag	87	0
Ala	Lei	ı Gly	Phe	Leu	Tyr	Ala	Ser	Gly	Leu	Gly	Va]	l Asr	Ser	Sei	Gln	•	
260)				265			•		270		• •			275	•	
gca	aag	g gc1	t cti	t gta	a tat	tat	aca	a ttt	gga	gct	t ct	t ggg	g ggo	c aa	t cta	91	8
Ala	Lys	s Ala	a Lei	ı Val	l Tyr	Tyr	Th	r Phe	e Gly	Ala	a Le	u Gly	y Gl	y Ası	n Leu		
				280	0	•		•	285	j		•	•	29	0 1	٠	
ata	a gc	c ca	c at	g gt	t tte	g ggt	ta	c aga	a tao	tg:	g gc	t gg	cat	c gg	c gtc	96	6
110	e Al	a Hi	s Ne	t Va	l Lei	ı Gly	Ty	r Ar	g Ty	Tr	p Al	a Gl	y Il	e G1	y Val		
		·	29	5	•			30	0				30	5		•	
ct	c ca	g ag	t tg	t ga	a tc	t gc	ct	g ac	t ca	c ta	t cg	t ct	t gt	t gc	c aat	: 101	4
Le	u G1	n Se	r Cy	s Gl	น Se:	r Ala	a Le	u Th	r Hi	s Ty	r Ar	g Le	u Va	1 Al	a Asr	1 .	

•		310				,	315					320				•	
cat	gtt	gct	agt	gat	atc	tcg	cta	aca	gga ·	ggc	tca	gta	gta	cag	aga		1062
His	Val	Ala	Ser	Asp	lle	Ser	Leu	Thr	Gly	Gly	Ser	Val	Val	Gln	Arg		
	325	,				330		,			3 35						
ata	cgg	ctg	cct	gat	gaa	gtg	gaa	aat	сса	gga	atg	aac	agt	gga	atg		1110
Ile	Arg	Leu	Pro	Asp	Glu	Val	G1u	Asn	Pro	Gly	Met	Asn	Ser	Gly	Met		· · · · · · · · · · · · · · · · · · ·
340					345				5 L	350	٠				355		
cta	gaa	gaa	gat	ttg	att	caa	tat	tac	cag	ttc	cta	gct	gaa	aaa	ggt		1158
Leu	Glu	Glu	Asp	Leu	Ile	Gln	Tyr	Tyr	Gln	Phe	Leu	Ala	Glu	Lys	Gly		
		• • •		360	* *	-	·.		365		- :			370			
	gta																1206
Ası	Val	Gln	Ala	Gln	Val	Gly	Leu	G1y	G1n	Leu	His	Leu	His	Gly	Gly	7	
	•		375					380					385				
	t gga																1254
Ar	g Gl	y Val	Glu	Gln	Asn	His	Gln	Arg	Ala	Phe	Asr			Ast	ı Lei	1	•
		390					395	•				400					1200
	a gc							,									1302
A1	a Al	a Asi	n Ala	a Gly	/ Asn			s Ala	a Met	t Ala			1 G1;	y Ly:	s me	τ	
	40					410					41				. .+	_	1250
	t to																1350
Ty	r Se	er Gl	u Gl	y Se:			e Va	l Pr	o Gi			n Gr	u In	i vi			
	20	e ver		era engle sa	42	in r			otr .	43	1				43	41.	1398
	ac ta																1030
H	is Ty	yr Ph	ie Ly			a Al	a As	р ме			n ri	o va	T G1	.y G1 45		-1	
				44					44		.a` #4	+ 00	o at			a t	1446
	gg c																1110
G	ly L	eu G			a Ty	r Le	u Iy	7F G1		ניט אַ.	.y *č	, AT 01		65	J.1 U.	, ~ .	
				55	_					n+ <i>m</i>	-+ e-	22 C			gg g	tø .	1494
Q	at c	ta g	CC C.	tt aa	ig ta	IT TI	ic ca	ag aa	aa go	il go	JL B	aa U	aa g	PC 1	6 6	-6	140

Asp	Leu	Ala	Leu	Lys	Tyr	Phe	Gln	Lys	Ala	Ala	Glu	G1n	Gly	Trp	Val		
		470					475		•	•		480			•	•	
gat	ggg	cag	cta	cag	ctt	ggt	tcc	atg	tac	tat	aat	ggc	att	gga	gtc		1542
Asp	Gly	Gln	Leu	Gln	Leu	Gly	Ser	Met	Tyr	Tyr	Asn	Gly	lle	Gly	Val		
	485		•			490					495		•	. •			
aag	aga	gat	tat	aaa	cag	gcc	ttg	aag	tat	ttt	aat	tta	gct	tct	cag		1590
Lys	Arg	Asp	Tyr	Lys	Gln	Ala	Leu	Lys	Tyr	Phe	Asn	Leu	Ala	Ser	Gln		
500					505		٠		-	510					515		
gga	ggc	cat	atc	ttg	gct	ttc	tat	aac	cta	gct	cag	atg	cat	gcc	agt		1638
Gly	Gly	His	Ile	Leu	Ala	Phe	Tyr	Asn	Leu	Ala	Gln	Met	His	Ala	Ser		
				520					525		•			530		• •	
ggc	acc	ggc	gtg	atg	cga	tca	tgt	cac	act	gca	gtg	gag	ttg	ttt	aag		1686
Gly	Thr	Gly	Val	Met	Arg	Ser	Cys	His	Thr	Ala	Val	Glu	Leu	Phe	Lys		
			535			•		540					545				-:
aat	gta	tgt	gaa	cga	ggc	cgt	tgg	tct	gaa	agg	ctt	atg	act	gcċ	tat		1734
Asn	Val	Cys	Glu	Arg	Gly	Arg	Trp	Ser	Glu	Arg	Leu	Met	Thr	Ala	Tyr		,
٠		550)				55 5	; · ,				560					
aac	ago	tat	t aaa	gat	ggc	gat	tac	: 'aat	gct	gca	gtg	atc	cag	tac	ctc	•	1782
Ası	Ser	Ty	r Lys	. Asp	Gly	Asp	Туг	Asn	Ala	Ala	Val	Ile	Gln	Tyr	Leu		
	565	5				570)				575	•	· .				
cto	cts	g gc	t gaa	cag	ggo	tat	gaa	a gtg	gca	caa	ago	: aat	gca	gco	ttt		1830
Le	ı Lei	ı Äla	a Glu	ı Glr	Gly	Ty1	Glu	ı Val	. Ala	Gln	Ser	Asn	Ala	Ala	Phe		
58	0			٠,	585	5	٠			590)				595		
at	t ct	t ga	t car	g aga	a gaa	a gca	age	c att	t gta	a ggt	gag	g aat	gaa	a act	tat		1878
11	e Le	u As	p Gl	n Arg	g Glu	ı Ala	a Se	r Ile	e Val	Gly	/ Glu	ı Asr	Glu	ı Thi	Tyr		
				60	0				605	5		•		- 610	0		
cc	c ag	a gc	t tt	g cta	a ca	t tg	g aa	c ag	g gc	c gc	tc	t caa	a gge	c ta	t act	٠.	1926
Pr	o Ar	g Ål	a Le	u Le	u Hi	s Tr	p As	n Ar	g Ala	a Ala	a Se	r Gli	1 G1	y Ty:	r Thr		
			61	5				62	0				62	5 ·			

gtg	gct	aga	att	aag	ctc	gga	gac	tac	cat	ttc	tat	ggg	ttt	ggc	acc		1974
				Lys													•
		630					635					640					,
gat	gta	gat	tat	gaa	act	gca	ţtt	att	cat	tac	cgt	ctg	gct	tct	gag		2022
				Glu								•		5			
	645		ga et at attitude			650					655				- i		
cag	caa	cac	agt	gca	caa	gct	atg	ttt	aat	ctg	gga	tat	atg	cat	gag		2070
G1n	Gln	His	Ser	Ala	Gln	Ala	Met	Phe	Asn	Leu	Gly	Tyr	Met	His	G1u		
660		, ,	J.		665				•	670					675		
aaa	gga	ctg	ggc	att	aaa	cag	gat	att	cac	ctt	gcg	aaa	cgt	ttt	tat		2118
Lys	Gly	Leu	1 G13	lle	Lys	Gln	Asp	Ile	His	Leu	Ala	Lys	Arg	Phe	Tyr		
• •			-	680		••			685					690			
gac	ats	g gca	a gc	t gaa	gcc	agc	cça	gat	gca	caa	gto	cca	gto	tto	tta	ì	2166
Asp	Me	t Ala	a Ala	a Glu	Ala	Ser	Pro	Asp	. Ala	G1n	Val	Pro	Val	Phe	e Lei	1	
		٠.,	69	5				700			b .		705	5	•	*	
gco	ct	c tg	c aa	a ttg	ggg	gtc	gto	tat	ttc	ttg	cag	tac	ata	ı cg	g gaa	a	2214
Ala	Le	u Cy	s Ly	s Lei	ı Gly	Val	Val	Tyr	Phe	Leu	Glr	ı Tyı	r Ile	e Arı	g Gli	ı	
		71	0 ;				715	j				720	0	•	· ·		
ac	a aa	c. at	t cg	a ga	t atg	tto	acc	caa	cti	t gat	tati	g ga	c ca	g ct	t tt	g į	2262
Th	r As	n Il	e Ar	g As	p. Net	Phe	Thi	Glr	ı Lei	ı Ası	Me	t As	p Gl	n Le	u Le	u	
	72	5		`		730) , · · · .				73	5					
gg	a co	t ga	g tg	g ga	c, ct	t tac	cto	ate	gac	c at	c at	t gc	g ct	g ct	g tt	g	2310
G1	y Pr	o GI	u Tr	p As	p Lei	נ T y נ	r Lei	u Me	t Th	r-Il	e Il	e Al	a Le	u Le	u Le	u	
74	0	<i>.</i> *	* = 1		74	5				75	0		• .		75	5	
gg	a ac	ca gi	tc at	ta go	t ta	c ag	g ca	a ag	g ca	gca	c ca	a ga	c at	g co	t go	a	2358
G1	y Tl	nr Va	al II	le Al	а Ту	r Ar	g Gl	n Ar	g Gl	n Hi	s Gl	n As	p Ne	t Pr	ro Al	a	,
				76	0				76	5	•			77	70		
C	c a	gg c	ct c	ca gg	g cc	a cg	g cc	a gc	t co	a cc	c ca	ig Ca	ag ga	g g	gg co	ca	2406
Pı	o A	rg P	ro P	ro Gl	y Pr	o Ar	g Pr	o Al	a Pr	o Pr	o Gi	in G	ln G	lu G	ly Pa	ro	

•	775	7	80	785		
cca gag ca	g cag cca cc	a cag t aat	aggcact ggg	tccagcc ttg	atcagtg	2458
Pro Glu Gli	n Gln Pro Pr	o Gln	•		· · · · ·	
79	0			•		
acagcgaagg	aagttatctg	ctgggaacac	ttgcatttga	tttaggacct	tggatcagtg	2518
gtcacctccc	agaagaggca	cggcacaagg	aagcattgaa	ttcctaaagc	tgcttagaat	2578
ctgatgcctt	tattttcagg	gataagtaac	tcttacctaa	actgagctga	atgtttgttt	2638
cagtgccata	tggagtaaca	actttcagtg	gcttttttt	ttcttttctg	gaaacatatg	2698
tgagacactc	agagtaatgt	ctactgtatc	cagctatctt	tctttggatc	cttttggtca	2758
ttatttcagt	gtgcataagt	tcttaatgtc	aaccatcttt	aaggtattgt	gcatcgacac	2818
taaaaactga	tcagtgttaa	aaaggaaaac	ccagttgcaa	gtttaaacgt	gttcgaaagt	2878
ctgaaaatag	aacttgcctt	ttaagttaaa	aaaaaaaaa	aagctatctt	gaaaatgttt	2938
tggaactgcg	ataactgaga	aacttcttac	cagtccacat	gcaattaaac	atattcagca	2998
tatttgttat	tttaaaaggg	agggttggga	ggtttcttat	tggtgattgt	cacacggtat	3058
accatactco	tctccttcaa	agaatgaaag	gccttgttaa	ggagttttt	gtgagcttta	3118
cttctttgga	atggaatata	cttatgcaaa	accttgtgaa	ctgactcctt	gcactaacgc	3178
gagtttgcc	cacctactct	gtaatttgct	tgtttgtttt	gaatataaca	gagccttgat	3238
ccagaagcca	a gaggatggac	taagtgggag	aaattagaaa	acaaaacgaa	ctctggttgg	3298
ggtactacga	a tcacagacac	agacatactt	ttcctaaagt	tgaagcattt	gttcccagga	3358
tttatttta	c tttgcatttc	tttttgcaca	aagaacacat	caccttcctg	aattctttaa	3418
atatgaaata	a tcattgccag	ggtatggctt	acagtgacta	ctattatcaa	tactaaaact	3478
cagagaatc	a aagatggatt	aaactcagtg	gttgatgaaa	gccaaaacct	gtttgtactg	3538
ttctatact	a ttcaggtatc	tttttatttc	tgatagtttt	atattataat	agaaagccag	3598
ccactgctt	a gctatcatag	tcaccatttt	ctcactgtta	acattaggaa	aatcaaggct	365
actatgctt	c aggattgtct	ggttaaatag	tatgggaaaa	aaactgaaga	gtttcaacat	371
aattacaca	c gtgaaataat	tacagcttaa	actgaatttg	g tatttcattt	tattgtcaga	377
	•			t tcgtatctga		383
				g cttttttccc		389
		•			gatttttgaa	305

gt	tggggtag	tagttagaac	tagatttaac	tagtctataa	tgaacatgaa	ggcttttata	4018
ta	atgaagttg	tatacctttt	tgtgtttaga	gaattatggg	aaacctggta	agcaaaactt	4078
to	cctcccaga	taattgcttc	caaattcgaa	gagttagtca	ccaagagagc	catatgtatg	4138
22	aagcgtatc	tgtgaaaggt	aggaaactta	cccccctaa	gtgtaatgtt	gctttaggca	4198
		1	ttgtttggtc				4258
		and a second resource of the second resource of	accactgtcc	and a second community of the contract of the con-		and the companies are the companies.	4318
	•		ttcagaagga				4378
				* * · · · ·		tcattttccc	4438
			taactttcct	**			4498
-		or and or organisms		management of the second of th	والمحبور فالساعد فللمستراب	cttgttgttc	4558
						ttaatgttct	4618
	and the second second second				•	tgctgccagc	4678
						aagactgtct	4738
		the state of the s		•		aagcaaatag	4798
			•			aaatggcatc	4858
		the state of the s		•		aactaactcc	4918
			•		•	g gcttcatttg	4978
					the second secon	c ttcgaacttg	5038
		* * * * * * * * * * * * * * * * * * *	· ·	. 7		t tagccgactg	5098
				*		t ggtgggtttt	5158
			· ·			g taaggcttat	5218
			* *			t tttcaaaatg	5278
		4			•	a tcttgatact	5338
						g agagtettae	5398
						c cagtgatctg	5458
						t taagtatttt	5518
						c cttcttttat	557
						ct ataaatgaaa	
						ac gcaaaaactt	

CCCCCacaga	ggilcggaci	aacatttcac	aigcacaiii	caaaacaaga	igigicatga	2120
aaacagcccc	tttacctgcc	aagacaagca	gggctatatt	tcagtgacag	ctggatattt	5818
tgtttctgaa	agtgaatctc	ataatatata	tatgtattac	acattattat	gactagaagt	5878
atgtaagaaa	tgatcagaac	aaaagaaaat	ttctattttc	atgcaaatat	ttttcatcag	5938
tcatcactct	caaatataaa	ttaaaatata	acactcctga	atgcctgagg	cacgatctgg	5998
attttaaatg	tgtggtattc	attgaaaaga	agctctccac	ccacttggta	tttcaagaaa	6058
atttaaaacg	atcccaagga	aagatgattt	gtatgttaaa	gtgactgcac	aagtaaaagt	6118
ccaatgttgt	gtgcatgaaa	aggattcctt	ggttatgtgc	agggaatcat	ctcacatgct	6178
gtttttccta	tttggtttga	gaaacaggct	gacactattc	tctttgatta	gaaaataaac	6238
tcataaaact	cataatgttg	atataatcaa	gatgttaacc	actataaata	tgtagaagag	6298
gaagttttaa	atagacctta	agctggcatt	gtgaaggaac	accatggtag	actctttttg	6358
gtaatggtat	tttgtattta	atgaaatgca	gtataaaggt	tggtgaagtg	taataataat	6418
tgtgtaaaca	aatcctgttt	aatagaagag	atgtacagaa	tcgttttggt	actgtatctt	6478
gaaacttgtg	aaataaagat	tccacttttg	gttatcctgt	atgctgtaat	ataccacaac	6538
caagcaccct	ttccagacag	actttttta	agctgaatga	atccaatttt	ttaatgtttt	6598
ttggaaattc	agaagcttct	gaaaacattc	acttgtggca	atttgaattt	atctttcatt	6658
ttaaactcct	gaaattcaga	tttttacaag	tccaatattg	ccctagggag	aacatgaatt	6718
tgctaagaaa	tgttatcttt	taaatctctg	atatctttgt	cttgaagcag	ccttgatatg	6778
tagtaagcgt	gattcacttt	agcctgatta	taatattatt	tatctaaagt	ttgtttatgc	6838
attgccttgt	cccaggaatt	ttttaagagg	acttgcagag	acacgtacca	cacagtaaca	6898
tttagactaa	atatgctctg	agtaaaggag	aaatgaaaaa	atattaaatc	aagagtgaac	6958
atgtacacaa	agtgcaattg	gaagtgggct	acaaatttag	ccccagctt	cccagcaggc	7 018
aactcaaaga	ggtaactgag	gtaaaatgtt	ccagctcaga	agcattggat	cttggataaa	7078
aagcctacat	gatgcaaact	gtggcaactg	agatgtcaga	tctcaagatc	tcaaattgta	7138
cttgtgggag	cacagtcagt	gaccccagat	gaccttgact	gacctaaaag	ttgtggggga	7198
agtcggatgt	cagagcctta	acaccagcag	gtgaccatcc	aacctggggc	aatgcctgcc	7258
tgttcaccac	ttagcctctt	tctggcaagt	cattagaatg	tcctccatct	tcattggctg	7318
caacttgatg	agctacagcc	tctttcctaa	cttcctttat	gatgctagtt	taggttggtt	7378
ataccagett	ggaagtatoc	ttagattaag	ttacagcaga	tacacaaatt	agatocaagt	7438

aaaaaaaatc agaatttctg tagtagaaac tacgaaaaat aaaaaggaaa gtttttactt	7498
tttgggtatt tttttacgaa taagaaaaag tgagcgttaa tcagttcaaa aggaggtact	7558
	7618
gctgtgtaat gggctttgta cgttccttct catgtcactt acgtcactac ttcgccatca	7678
aattgaacaa gcttttaatt agatcctgaa aattcactat gctagtagtt tattggtagt	7738
attatatttt gagtagaact ctgattttcc ctagaggcca aattctttt atctgggtta	7798
atttctttta aacataacaa tgttaatgct gaattgtata ttaaatccca tttctaaaaa	• • • •
ccacacaatt ttttctcatg taagttgagt ggaatgtggt tagttaactg aatttggaat	7858
gttcatataa ataatttgtt gctgctc	7885
na a mana dalah	
<210> 4	
<211> 10	
<212> DNA	
(213) Primer sequence for PCR of TSA305	
<400> 4	
gatctgacac	10
<210> 5	
<211> 28	•
<212> DNA	
<213> Primer sequence for PCR of TSA305	•
<400> 5	
gatcggatcc aggaggatgc gggtccgg	.28
<210> 6	
<211> 30	
<212> DNA	
<213> Primer sequence for PCR of TSA305	•
<400> 6	
gatectegag ttactgtggt ggetgetget	30

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

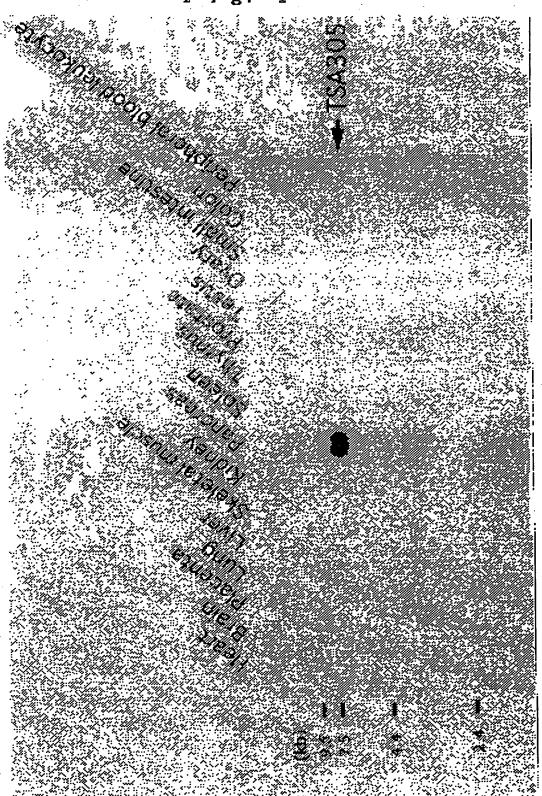
International application No. PCT/JP98/05306

A CLA	SSIFICATION OF SUBJECT MATTER .Cl ⁶ C12N15/12, C07K14/435, C07F	(16/18	
According	to International Patent Classification (IPC) or to both national	onal classification and IPC	
B. FIEL	DS SEARCHED		
Minimum Int	documentation searched (classification system followed byCl ⁶ C12N15/12, C07K14/435, C07K	y classification symbols) K16/18	
Documen	tation searched other than minimum documentation to the	extent that such documents are included	in the fields searched
		·	
Electroni Sw:	c data base consulted during the international search (name LSSProt/PIR/GeneSeq, Genbank/EMBI	of data base and, where practicable, se L/DDBJ/GeneSeq	arch terms used)
	· 10 - 10 - 10 - 10 - 10 - 10 - 10 - 10		
C DO	CUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category		ropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	Barth Grant et al., "The Caneori	habditis elegans sel-1	1-9
	gene, a negative regulator of encodes a predicted extracell	lin-12 and $glp-1$,	·
7	Genetics (1996) Vol. 143, No.	1 p.237-247	
A	Barth Grant et al., "Structur	e, function, and	1-9
	expression of SEL-1, a negati	ve regulator of LIN-	
	12 and GLP-1 in C. elegans", Vol. 124, No. 3 p.637-644	Development (1997)	
	VOI. 124, NO. 5 p. 057-044		
		·	
		•	
		•	
Į			
1			
		•	
F	urther documents are listed in the continuation of Box C.	See patent family annex.	
· s	pecial categories of cited documents:	"T" later document published after the into date and not in conflict with the applic	ernational filing date or priority action but cited to understand
φ. "F" e	ocument defining the general state of the art which is not insidered to be of particular relevance artier document but published on or after the international filing date ocument which may throw doubts on priority claim(s) or which is	the principle or theory underlying the "X" document of particular relevance; the considered novel or cannot be considered	invention claimed invention cannot be
c	ted to establish the publication date of another citation or other secial reason (as specified) socument referring to an oral disclosure, use, exhibition or other	when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the	claimed invention cannot be
"P" d	ocument reterring to all oral disclosure, use, exhibition of since the leans ocument published prior to the international filing date but later than he priority date claimed	combined with one or more other such being obvious to a person skilled in the "&" document member of the same patent	h documents, such combination ne art
ı			
Date o	f the actual completion of the international search March, 1999 (03. 03. 99)	Date of mailing of the international se 16 March, 1999 (1	6. 03. 99)
Name	and mailing address of the ISA/ apanese Patent Office	Authorized officer	· ·
	nile No.	Telephone No.	

国際調査報告

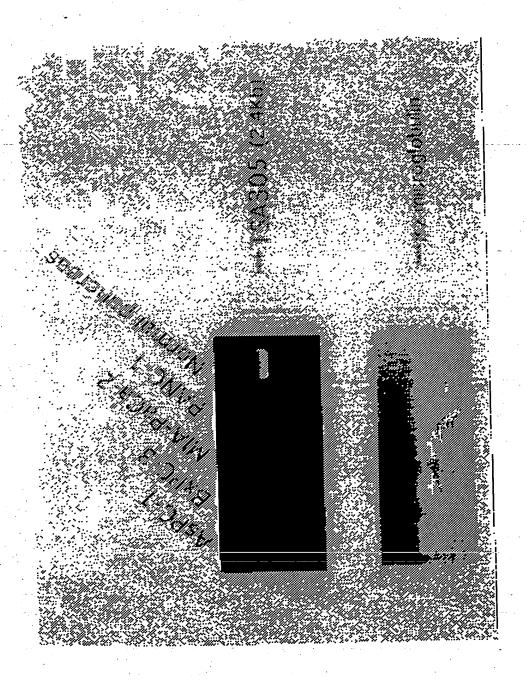
A. 発明の属する分野の分類(国際特許分類(IPC)) Int.Cl' Cl 2 N 1 5 / 1 2、 CO 7 K 1 4 / 4 3 5、 CO 7 K 1 6 / 1 8 B. 適差を行った分野 調査を行った分野 調査を行った分野 調査を行った分野(国際特許分類(IPC)) Int.Cl' Cl 2 N 1 5 / 1 2、 CO 7 K 1 4 / 4 3 5、 CO 7 K 1 6 / 1 8 最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの DIMT				
図数を行った最小限資料(国際特許分類(1PC) Int.Cl* C12N 15/12、C07K 14/435、C07K16/18 最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの	A. 発明の属 Int.Cl° C 1 2	する分野の分類(国際特許分類(IPC)) N 15/12, С07К 14/435, С07F	⟨16/18	
図数を行った最小限資料(国際特許分類(1PC) Int.Cl* C12N 15/12、C07K 14/435、C07K16/18 最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの				
図数を行った最小限資料(国際特許分類(1PC) Int.Cl* C12N 15/12、C07K 14/435、C07K16/18 最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの). /\ m7		
最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの 国際調査で使用した電子データベース(データベースの名称、調査に使用した用語)	カナンに た見	小阳次441(国際特許分類(IPC))		
最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの 国際調査で使用した電子データベース(データベースの名称、調査に使用した用語)	Int. Cl° C 1 2	N 15/12, CO7K 14/435, CO7	K 1 6 / 1 8	
回際調査で使用した電子データベース(データベースの名称、調査に使用した用語) SwisProt/PlR/GeneSeq, Genbank/EMBL/DDBJ/GeneSeq C. 関連すると認められる文献 引用文献のカテゴリー*				
回際調査で使用した電子データベース(データベースの名称、調査に使用した用語) SwisProt/PlR/GeneSeq, Genbank/EMBL/DDBJ/GeneSeq C. 関連すると認められる文献 引用文献のカテゴリー*				
C. 関連すると認められる文献 関連すると認められる文献 別用文献名 及び一部の箇所が関連するとをは、その関連する箇所の表示 請求の範囲の番号 カテゴリー* 引用文献名 及び一部の箇所が関連するとをは、その関連する箇所の表示 請求の範囲の番号 A Barth Grant et al. "The Caneorhabditis elegans sel-1 gene, a negative regulator of lin-12 and glp-1, encodes a predicted extracellular protein", Genetics (1996) Vol. 143, No. 1 p. 237-247 1 - 9 A Barth Grant et al. "Structure, function, and expression of SEL -1, a negative regulator of LIN-12 and GLP-1 in C. elegans", Development (1997) Vol. 124, No. 3 p. 637-644 1 - 9 * 利用文献のカテゴリー「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの 「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表された文献であって、当該文献の原理又は理論の理解のたじまりままままままままままままままままままままままままままままままままままま	最小限資料以外	の資料で調査を行った分野に含まれるもの		
C. 関連すると認められる文献 同用文献の カテゴリー* 引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示				
引用文献のカテゴリー*	国際調査で使用 SwissI	用した電子データベース (データベースの名称、調Prot/PIR/GeneSeq, Genban	査に使用した用語) k/EMBL/DDBJ/GeneS	e q
引用文献のカテゴリー*				
日本 日本 日本 日本 日本 日本 日本 日本				
A Barth Grant et al. "The Caneorhabditis elegans sel-I gene, a negative regulator of lin-I2 and glp-I, encodes a predicted extracellular protein", Genetics (1996) Vol. 143, No. 1 p. 237-247 A Barth Grant et al. "Structure, function, and expression of SEL -1, a negative regulator of LIN-12 and GLP-1 in C. elegans", Development (1997) Vol. 124, No. 3 p. 637-644 * 引用文献のカテゴリー 「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示す もの 「E」国際出版目前の出願または特許であるが、国際出版日 以後に公表された文献であって、当該文献のの理文は理及に登集を表されたもの「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行 日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する 文献 (理由を付す) 「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献 「P」国際出版目前で、かつ優先権の主張の基礎となる出版 「P」国際出版目前で、かつ優先権の主張の基礎となる出版 「A」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの「を」同一パテントファミリー文献 「B、同一パテントファミリー文献 「を」同一パテントファミリー文献 国際調査機関の名称及びあて先 日本国特許庁 (ISA/JP) 新優番号 100-8915		引用文献名 及び一部の箇所が関連するとき	は、その関連する箇所の表示	
A Barth Grant et al. "Structure, function, and expression of Job 1, a negative regulator of LIN-12 and GLP-1 in <i>C. elegans</i> ", Development (1997) Vol. 124, No. 3 p. 637-644		Barth Grant et al. "The Caneorhabd negative regulator of lin-12 and gentracellular protein", Genetics (1996) Vol. 143, No. 1 p. 25	itis elegans sel-1 gene, a lp-1, encodes a predicted	
* 引用文献のカテゴリー 「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの 「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表された文献であって、出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の発信といる。 「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの 「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用するなが、対策に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献(理由を付す) 「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願「を」同一パテントファミリー文献 国際調査を完了した日 国際調査を完了した日 国際調査機関の名称及びあて先日本国特許庁(ISA/JP) 新便番号100-8915	A	1 a pagetive regulator of LIN-12	and GLF-1 In C. Cregario ,	1-9
* 引用文献のカテゴリー 「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの 「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表された文献であって、出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の発信といる。 「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの 「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用するなが、対策に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献(理由を付す) 「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願「を」同一パテントファミリー文献 国際調査を完了した日 国際調査を完了した日 国際調査機関の名称及びあて先日本国特許庁(ISA/JP) 新便番号100-8915				
* 引用文献のカテゴリー 「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの 「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表された文献であって、出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の発信といる。 「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの 「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用するなが、対策に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献(理由を付す) 「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願「を」同一パテントファミリー文献 国際調査を完了した日 国際調査を完了した日 国際調査機関の名称及びあて先日本国特許庁(ISA/JP) 新便番号100-8915				
* 引用文献のカテゴリー 「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの 「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表された文献であって、出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明日 と では他の特別な理由を確立するために引用する 文献 (理由を付す) 「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願「を」同一パテントファミリー文献 国際調査を完了した日 国際調査を完了した日 国際調査を完了した日 国際調査を完了した日 国際調査を完了した日 国際調査を完了した日 の3.03.99 国際調査機関の名称及びあて先 日本国特許庁(ISA/JP) 新便番号100-8915			□ パテントファミリーに関する	別紙を参照。
国際調査機関の名称及びあて先 日本国特許庁 (ISA/JP) 郵便番号100-8915 特許庁審査官 (権限のある職員) 小春 道明	* 引用ない 「A」特ものい 「E」国以優先 「L」優先者 文明	成のカテゴリー 関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示す 出願日前の出願または特許であるが、国際出願日 こ公表されたもの 権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行 しくは他の特別な理由を確立するために引用する (理由を付す) による関示、使用、展示等に言及する文献	「T」国際出願日又は優先日後に公司 て出願と矛盾するものではなる 論の理解のために引用するもの 「X」特に関連のある文献であって、 の新規性又は進歩性がないと 「Y」特に関連のある文献であって、 上の文献との、当業者にとって進歩性がないと考えら	、 発明の原理又は理 り 当該文献のみで発明 考えられるもの 当該文献と他の1以 て自明である組合せに
国際調査機関の名称及びあて先 日本国特許庁 (ISA/JP) 郵便番号100-8915	国際調査を	完了した日 03.03.99	国際調査報告の発送日 16.0	3.99
	B	本国特許庁 (ISA/JP) 郵便番号100-8915	小春道明	

Fig. 1



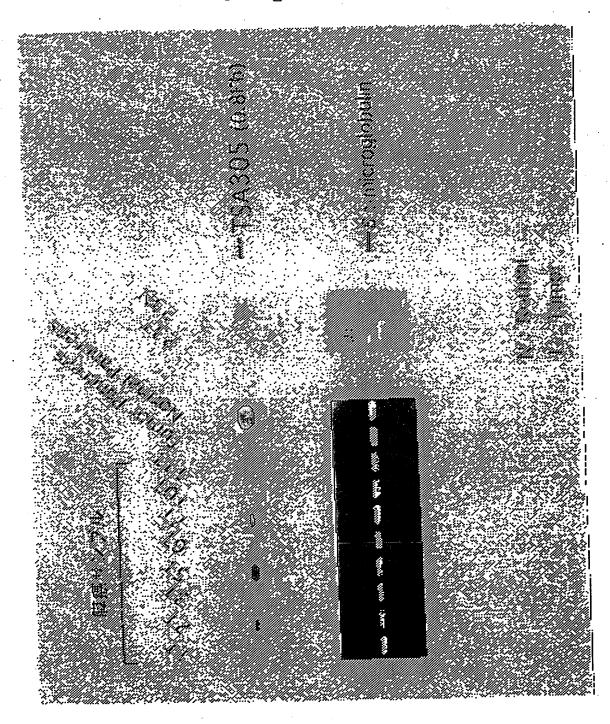
差替え用紙 (規則26)

Fig. 2



差替之用紙(規則26)

Fig. 3



110

1/15

配列表

SEQUENCE LISTING

(110) Otsuka Pharmaceutical Co., Ltd. (120) TSA305 gene <130> P98-53 <150> JP 89-3433789 and 810-126803 <151> 1997-11-28 and 1998-4-20 <18D> 6 <170> Patentin Ver. 2.0 (210) 1 <211> 794 (212) PRT <213> human nomal pancreas cDNA library <400> 1 Het Arg Val Arg Ile Gly Leu Thr Leu Leu Leu Cys Ala Val Leu Leu 15 10 1 Ser Leu Ala Ser Ala Ser Ser Asp Glu Glu Gly Ser Gln Asp Glu Ser 30 25 20 Leu Asp Ser Lys Thr Thr Leu Thr Ser Asp Glu Ser Val Lys Asp His 35 Thr Thr Ala Gly Arg Val Val Ala Gly Glo Ile Phe Leu Asp Ser Glu 60 -55 50 Glu Ser Glu Leu Glu Ser Ser He Gln Glu Glu Glu Asp Ser Leu Lys 75 70 65 Ser Gln Glu Gly Glu Ser Val Thr Glu Asp Ile Ser Phe Leu Glu Ser 90 85 Pro Asn Pro Glu Asn Lys Asp Tyr Glu Glu Pro Lys Lys Val Arg Lys

105

100

Pro	Ala	Leu	Thr	Ala	He	Glu	Gly	Thr	Ale	His	Gly	Glu	Pru	Cys	His
		115	-				120					125			
Phe	Pro	Phe	Leu	Р'nе	Leu	Asp	Lys	Glo	lyr	Лsp	Glu	Cys	Thr	Ser	Asp
	130					135					140				
G1y	årg	Glu	Asp	Gly	Arg	Leu	Trp	Cys	Ala	Thr	Thr	Tyr	Asp	Тут	Lys
145		•			150		•			155			•		160
Ala	Asp	Glu	Lys	Trp	Gly	Phe	Cys	Glu	Thr	Glu	Glu	Glu	Ala	Mla	Lys
				165					170		,			175	· · ·
Arg	Arg	C) u	Met	Gln	Glu	Ala	Glu	Net	Net	Tyr	Glo	Thr	Gly	Net	Lys
	•		180					185					190		•
Ile	Leu	. Aso	Gly	Ser	กลล์	Lys	Lys	Ser	Gln	Lys	Arg	Glu	Ala	Tyr	Arg
•		195					200					205	,		
Tyr	Leu	Gln	Lys	Ala	Ala	Sei	Net	, Asn	Bis	The	Lys	Ala	Leu	Glu	ÀTG
	210					215	,				220		,		-
Val	Sei	Tyr	· Ale	Lev	Leu	Phe	• G13	' Asp	Tyr	Leu	Pro	G1n	A\$N	Ile	Glo
225	j				230)	•			235	i .				240
Ala	ı Ala	a Arg	g Glu	Met	Phe	e G1:	a Lys	Lei	ı Thi	r Glu	Glu	Gls	Ser	Pro	Lys
		,	,	245	5				25	D				255	,
Gl	y Gl	n Thi	r Ala	a Lei	ı Gly	y Ph	e Lé	ц Ту:	r Ala	a Se	c G13	Lei	ı Gly	y Val	l Asn
		,	26	0				26	5				270)	. •
Se	r Se	r Gl	n Al	s Ly.	a Al	a Le	u Va	l Ty	r Ty	r Th	r Phe	e Gl	у #7:	a Le	u Gly
٠.		27	5				28	0				28	5		
Gl	y As	n Le	u Il	e Al	e Ai	6 Ne	t Va	1 Le	u Gl	у Ту	r Ar	g Ty	r Tr	p Al	a Gly
	29				•	29				•	30				
Il	e Gl	ly Va	l Le	u Gl	.a. Se	r Cy	rs Gl	u Se	r Al	a Le	u Th	r Hi	s Ty	r hi	g Lei
30	15		•		31	0			•	31	5	•	•	• .	320
٧a	al Al	la As	sn Ai	is Ya	ıl Al	la Se	er As	p I	le Si	er Le	u Th	r Gl	y Gl	y Se	r Va
				32			:			30				3:	
V:	al G	ln Å	rg I	le As	rg Le	eu Pa	ro Ál	sp G	lu Va	a1 G	lu As	in Pi	ro Gl	y Ke	et As

			340			,		345					350	ŕ	
Ser	Gly	Net 355	Leu	Glu	Glu	Asp	Leu 360	Ile	Gln	Tyr	Tyr	G1a 365	Phe	Leu	Ala
Glu		Gly	λsp	Val	Gln		Gln	Val	Gly	Leu		G ln	Leu	His	Leu
	370			en v. arekan a	· ·	375	America and a separate				380		-		
	Gly	Gly	Arg	Gly	Va1	Glu	G1n	Aen	His	Gln	Arg	Ala	Phe	λsp	Tyr.
385	٠				990			-	: -	395					400
Phe	ង់នល	Leu	als	Ala	Asn	Ala	Gly	Asn	Ser	His	Ala	Net	Ala	Phe	Leu
				405					410					415	
Gly	Lys	Met	Tyr	Ser	Glu	Gly	Ser	Asp	Ile	Yal	Pro	Gln	Ser	Asn	Glu
			420					425		*			430		
Thr	Ale	Leu	His	Tyr	Phe	Lys	Lys	Ala	Ala	asp	Net	Gly	ЙБЛ	Pro	Val
		435					44D			٠.	•	445	ì		
Gly	Gln	Ser	Gly	Leu	Gly	Met	Ala	Tyr	Leu	Tyr	Gly	ATG	Gly	Val	Gln
	450				-	455		,	: .		460				
Val	Asn	Tyr	λsp	Leu	Ala	Leu	Lys	Tyr	Phe	Gln	Lys	Ale	Ala	Glu	Gln
465		•		٠	470					475					480
Gly	Trp	-Yal	ysb	Gly	Gln	Leu	. Gla	Leu	Gly	Ser	Net	Тут	Tyr	Asn	Gly
				485	٠		•	:	490	٠,	٠.			495	
Ile	Gly	. Vai	Lys	Arg	day ;	Tyr	Lys	Gln	Ala	Leu	Lys	Tyr	Phe	Asn	Leu
			500					505			•	٠.	510		
Ala	Sex	Gln	Gly		His	***								Glo	Met
		515	4		***	•						525			
His	Ala	Ser	Gly	Thr	Gly	Vel	. Xet	Arg	Ser	Cys	His	Thr	Ala	Val	Glu
	530	}				535	5				540				
Leu	Phe	Lys	i Ast	Val	Суб	G1u	Arg	Gly	Arg	Tr	Ser	G1u	Arg	Leu	Ket
545	•				550	ı	,			555	,				560
Thi	, Ale	Typ	r Asc	Se:	Tyr	Lys	e kej	Gly	/ Ası	Tyr	ลรถ	Ala	Ala	. Val	lle
-				565	5				570	}		,		575	j

4/15.

Gln	Tyr	Leu	Leu	Leu	Ala,	Glu,	Gln	GI y	Tyr	Glu	Yal	Ala	Gln	Ser	Asn
			580		¥			585			. •		590		
Ala	Лlа	Phe	lle	Lец	Asp	Gln	Arg	Glu	Ala	Ser	lle	Val	Gly	Glu	Asn
		595					600					605			
Glu	Thr	Tyr	Pro	ATg	Ala	Leu	Leu	dis	Trp	Asn	Arg	Ala	Ala	Ser	Gln
	610					615	*				620				•
Gly	Tyr	Thr	Val	Ala	Arg	lle	Lys	Leu	Gly	Asp	Tyr	lis	Phe	Тут	Gly
625					630			τ. "		635					640
Phe	Gly	Thr	Asp	Val	Asp	Tyr	Glu	Thr	Ala	Phe	Ile	His	Tyr	Arg	Leu
				645					650					655	
ālz	Ser	Glu	Gln	Gln	Ħís	Ser	Ala	Gln	Ala	Net	Phe	Asn	Leu	Gly	Tyr
			660					665					670		
Ket	B is	Glu	Lys	Gly	Leu	Gly	He	Lys	Gln	Авр	Ile	His	Leu	Ala	Lys
		675					680					6 8 5			
Årg	Phe	Tyr	Asp	Met	Ala	Ala	Glu	Ala	Ser	Pro	Asp	Ala	Gln	Val	Pro
	690	•				695	•				700			,	
Val	Phe	Leu	Ala	Leu	Cys	Lys	Leu	Gly	Vel	YaI	Tyr	Phe	Leu	Gln	Tyr
705	i		*		710	-				715	•			•	720
Ile	Arg	, Glu	. Thr	Asn	. Ile	årg	Иsр	Net	Phe	Thr	Gln	Leu	Asp	Net	Asp
•				725	i				780					735	•
Gla	Le	Leo	ı G l3	, Pro	Glu	Trp	Asp	Leu	Ţyr	Leu	Ket	Thr	Ile	Ile	Ala
			740)				745	•		•		750		
Let	ı Let	ı Lei	ı Gly	Th:	. Val	Ile	Ala	Tyr	Arg	Gln	Àrg	Gln	e Ois	Glo	, Asp
		759	5				760)				765)		
Ke:	t Pro	, Ala	a Pr	o Are	Pro) Pro	Gly	Pro) Arg	Pro) Ala	Pro	Pro	Glr	ı Çld
	771	0	•			775	,				780)			
Gli	ı Çl	y Pr	o Pri	o Glu	ı Gle	1 G10	ı Pro) Pro	Gls	1			•		
78	5	•	٠		700	3	•					•			

<210> 2

(211> 2382

<212> DNA

<213> human nomal pancreas cDNA library

<400> 2

atgogggice ggataggget gacgetgetg etgtgtgegg tgetgetgag ettggeeteg 60 gegteetegg atgazgaagg cagecaggat gaateettag attecaagae taetttgaca 120 tragatgagt ragtaeagge cratectert graggragag tagttgrtgg trasatatit 180 ettgettcag aagaatetga attagaatee tetatteaag aagaggaaga cageeteaag 240 agccaagagg gggaaagtgt cacagaagat atcagctttc tagagtctcc aaatccagaa 300 sacaaggact atgazgagee aasgasagts eggaaaceag cittgacege cattgazgge 360 420 acagcacatg gggagecetg ecactteeet tttettttee tagataagga gtatgatgaa tgtacatcag atgggggggga agatggcaga ctgtggtgtg ctacaaccta tgactacaaa 480 gcagatgasa agtggggctt ttgtgsaset gasgssgagg ctgctsagag acggcagatg 540 caggaagcag asatgatgta tomaactgga atgaasatco ttaatggaag cantsagasa 600 agecaanasa gagaagesta teggtateit caasaggesg caageatgas ceataccaas 660 gecetggaga gagtgteata tgetetttta tttggtgaft seftgecaca gaatateeag 720 geagegagag agatgtttga gaagetgact gaggaagget etcccaaggg acagactgct 780 etiggette igiatgeete iggactiggi gitaaticaa gicaggeasa ggetetigia 840 tattatacat ttggagctct tgggggcaat ctaatagccc acatggtttt gggttacaga 900 960 tactgggetg geateggegt ectecagagt tgtgaatetg ecetgactea etategtett 1020 gtigocaate atgitgotag tgatateteg etaacaggag geteagtagt acagagaata 1080 eggetgeetg afgangtgga aaateeagga afgancagtg gaatgetaga agangatttg attcaatatt accagitect agetgasasa ggigatgise aageseaggi iggietiggs 1140 cancigoace igeneggagg gegiggagta gaacagaate atcagagage attigactae 1200 ttcaatttag cagcaaatgc tggcaattca catgccatgg ccittttggg aeagatgtat 1260 1320 teggaaggaa gigacatigi accteagagi aatgagacag etetecacia etitaagaaa getgetgaca teggecacce agttggacag agtgggette gaatggeeta cetetatggg 1380 agaggagtte aagttaatta tgatetagee ettaagtatt teeagaaage tgetgaacaa 1440

			·			
ggctgggtgg	atgggcaget	acagettegt	tccatgtact	atestggcst	tggagtcaag	1500
agagattata	aacaggcctt	gaegtatttt	aatttagctt	ctcagggagg	ccatatottg	1560
gctttctata	acctagetea	gatgestgee	agtggcaccg	gcgtgatgcg	atcatgtcac	1620
actgcagtgg	agtigtttaa	gastgtatgt	gaacgaggcc	gttggtctga	aaggettatg	1680
actgoctate	acagetataa	agatggcgat	tecestacts	cagtgateca	gtacctcctc	1740
ctggctgaac	agggctatga	agtggcacaa	agcastgcag	cctttattct	tgatcagaga	1800
gaagcaagca	ttgteggtge	gaetgaaact	tatcccagag	ctttgctsca	ttggaacagg	1860
geegeetete	aaggctatac	tgtggctaga	etteagctcg	gagactacca	tttctatggg	1920
tttggcaccg	atgtagatta	tgasactgcs	ftfatfcatt	accgtctggc	ttctgagcag	1980
caacacagtg	ceceagctat	gtttmatctg	ggatatatgc	atgagaaagg	actgggcatt	2040
asacaggata	ttcaccttgc	gaaacgtttt	tatgacatgg	cagctgaagc	cagcccagat	2100
gcacaagttc	cagtettect	agccctctgc	maattgggcg	tcgtctattt	cttgcagtac	2180
atacgggaza	caaacatteg	agatatgtic	accements	atatggacca	gcttttggga	2220
cctgagtggg	acctttacct	catgaccate	attgcgctgc	tgttgggaac	agtcateget	2280
tacaggcaaa	ggcagcacca	agacatgcct	gcacccagge	ctccagggcc	acggccaget	2340
coaccccage	aggaggggcc	accagagcag	Cagccaccac	ag		2382
				·-		1, • 1

(210) 3

<211> 7885

<212> DNa

(213) human nomal pancreas cDNA library

(220)

<221> cDS

(222) (46)..(2428)

<400> 3

gcgaaggcga cagetetagg ggttggcace ggeceegaga ggaag atg egg gte 54

Net Arg Val

1

egg ata ggg etg acg etg etg etg tgt geg gtg etg etg age ttg gee

102

arg Ilc Gly Leu Thr Leu Leu Cys Ala Val Leu Leu Ser Leu Ala	:
5 10 15	•
tog gog too tog gat gas gaz ggc age cag get gas too tta gat too	150
Ser Ala Ser Ser Asp Glu Glu Gly Ser Gln Asp Glu Ser Leu Asp Ser	· · · · · · · · · · · · · · · · · · ·
ac 30 30	
20 23 aag act act tig aca toa gat gag toa gia aag gac cet act ect goa	198
Lys Thr Thr Leu Thr Ser Asp Glu Ser Val Lys Asp His Thr Thr Ala	
1E 10	· ·
ggc aga gta gtt gct ggt caa ata ttt ctt gat tea gaa gaa tet gaa	246
Gly Arg Val Val Ala Gly Gln Ile Phe Leu Asp Ser Glu Glu Ser-Glu	
65	
	294
tta gas tee tet att caa gas gas gas age ete aag age esa gag Leu Glu Ser Ser Ile Glu Glu Glu Glu Asp Ser Leu Lys Ser Glu Glu	•
v. 80	* . * .
70 75 ou tot ca sat cas	342
ggg gas agt gte aca gas gat atc age ttt cta gag tet eca ast eca	
Gly Glu Ser Val Thr Glu Asp Ile Ser Phe Leu Glu Ser Pro Asn Pro	
NA DU	390
gas asc asg gac tat gas gag cos asg sas gta cgg ass cos got tig	
Glu Asn Lye Asp Tyr Glu Glu Pro Lys Lys Val Arg Lys Pro Ala Leu	
ion lub	438
ace gee att ges gge see ges cat ggg gag eee tge cae tte eet ttt	
The Ala Ile Glu Gly The Ala His Gly Glu Pro Cys His Phe Pro Phe	-
120 - Albania I I I I I I I I I I I I I I I I I I I	486
ctt tie eta gat aeg gag tat gat gaa tgt aca tea gat ggg agg gea	-
Leu Phe Leu Asp Lys Glu Tyr Asp Glu Cys Thr Ser Asp Gly Arg Glu	• • •
135 140 145	534
gat ggc aga ctg tgg tgt gct aca acc tat gac tac saa gca gat gaa	. Joh
Asp Gly Arg Leu tro Cys Ala Thr Thr Tyr Asp Tyr Lys Ala Asp Ulu	
150 155 160	

aag	tgg	gg¢	ttt	tgt	gaa	act	gab	gae	gag	gct	gct	aag	aga	cgg	cag	58 2
Lys	Trp	Gly	Phe.	Cys	Glu	Thr	G1u	Glu	Glu	Дla	Ala	Lys	Arg	Arg	Gln	
	165	•				170					175					,
atg	Cag	gea	gся	gae	atg	atg	tat	caa	act	gga	atg	888	atc	ctt	aat	630
Ket	Gìn	Glu	Ala	Glu	Net	Net	Tyr	Gla	Thr	Gly	Net	Lys	lle	Ļeņ	Asa	
180				٠.	185					190	•			٠	195	
gga	agc	aat	aag	888	agc	CBB	888	aga	gaz	gca	tat	cgg	tat	ete	Caa	678
Gl y	Şer	Asn	Lys	Lys	Ser	G1n	Lys	Årg	Glu	Ala	Tyr	Arg	Tyr	Leu	Gln	
				200					205					210	٠.	
BAY	gca	gca	agc	atg	eac	cat	BCC	aza	gçç	ctg	gag	aga	gtg	tca	tat	726
Lys	Ale	Ala	Set	Net	Aso	His	Thr	Ĺys	Ala	Leu	Glu	Arg	Va1	Ser	Tyr	
			215					220	٠				225			
gct	ctt	tta	ttt	ggt	gat	tac	ttg	CCA	cag	aat	atc	cag	gca	gcg	aga	774
Ala	Leu	Leu	Phe	Gly	Asp	Tyr	Leu	Pro	G1n	Asn	Hc	GIn	Ala	Ala	Arg	
		230			•		235					240				
gag	atg	ttt	gag	aag	ctg	act	gag	gaa	ggc	tct	CCC	aag	gga	cag	act	822
Glu	Ket	Phe	Glu	Lys	Leu	Thr	Glu	Glu	Gly	Ser	Pro	Lys	Gly	Gln	Thr	
	245	•				250					255	•	•		. •	
gct	ctt	REC	ttt	ctg	tat	Ecc	tçi	gga	ctt	ggt	gtt	nat	tca	agt	cag	870
Ala	Leu	Gly	Phe	Leu	Tyr	Ala	Ser	Gly	Leu	Gly	Val	ДБД	Ser	Ser	G1n	
280					265					270	•				275	
gca	aag	get	ctt	gta	tat	tat	aca	ttt	gga	gct	ctt	gge	ggc	aat	cta	918
Ala	Lys	Als	Leu	Val	Tyr	Тут	Thr	Phe	G1y	Ale	Lei	ı Gly	Gly	/ Asn	Leu	
		,		280	. .				285		, = .e			290	,	
ata	gcc	cac	atg	gti	tig	ggt	tac	a g a	tac	. tgg	gci	gge	ato	ggc	gtc	988
ΪΙέ	: Ala	His	: Net	. Val	Leu	G13	y Ty	. Arg	, Tyr	Tr	Ala	ı Gly	/ I1e	e G15	/ Val	
			295	;			• ,	300)			•	305	5		
cto	: ca _i	g agi	tgi	c gos	tet	gc	cts	g act	cec	: tat	t cg	t ct	t gti	t gc	sat	1014
Lei	: G1:	Se:	Cys	s Glu	, Şer	. Ale	Lei	ı Thi	. Bis	Ty:	Ar	g Lei	. Vai	l Ale	a Asn	

310	315	320	4660
cat gtt gct agt gat atc tcg	cta aca gga ggc tca	gta gta cag aga	1062
His Val Ala Ser Asp Ile Ser	Leu Thr Gly Gly Ser	Val Val Gln Arg	•
325 330	335		
ata cgg ctg cct gat gaa gtg	gas aat cca gga atg	aac agt gga atg	1110
lle Arg Leu Pro Asp Glu Val	Glu Asn Pro Gly Met	Asn Ser Gly Net	e de la compania de l La compania de la compania de
340 345	350	35 5	
cta gas gas gat tig att cas	tat tac cag fic cta	gct gaa aaa ggt	1158
Leu Glu Glu Asp Leu Ile Glu	Tyr Tyr Gln Phe Leu	Ala Glu Lys Gly	
360	365	370	<u></u>
gat gta cas gca cag git ggi	ctt gge cea ctg ca	c ctg cac gga ggg	1.206
Asp Val Gln Ala Gln Val Gly	y Leu Gly Gln Leu Hi	s Leu His Gly Gly	
375	380	385	
cgt gga gta gea cag eat ca	t cag aga gca ttt ga	c tac ttc aat tta	1254
Arg Gly Val Glu Glu Aso Hi	s Glo Arg Ala Phe As	p Tyr Phe Asn Leu	
390	395	400	•
gea gea sat get gge ast to	a cat goo atg goo ti	tt tig gga ang atg	1302
Ala Ala Asn Ala Gly Asn Se	er Bis Ala Net Ala Pl	he Leu Gly Lys Het	
405		15	
tat tog gas ggs agt gac a	tt gta cct cag agt a	at gag ace gct ctc	1350
Tyr Ser Glu Gly Ser Asp I	le Val Pro Gln Ser A	sn Glu Thr Ala Leu	·. · · · · · · · · · · · · · · · · · ·
420 425	430	435	
cac tac ttt aag aaa got g	ct gac atg ggc aac c	ce gtt gga cag agt	1398
His Tyr Phe Lys Lys Ala A	la Asp Met Gly Asm I	Pro Val Gly Gin Ser	
440	445	450	
ggg ctt gge atg gcc tac (eto tat ggg aga gga	gtt can gtt aat tat	1446
Gly Leu Gly Met Ala Tyr	Leu Tyr Gly Arg Gly	Val Gin Val Asn tyr	
455	480	465	
gat cta gcc ctt sag tat	ttc cag ass gct gct	gaa caa ggc tgg gtg	1494
 u •			

Asp	Lev	YIa	Leu	Lys	Туг	Phe	Glu	Lys	Ala	Ala	Glu	GIń	Gly	Trp	Val	
		470					475	•				480	٠			
gat	ese	cag	cta	cag	ctt	ggt	tcc	etg	tac	tat	aat	ggc	att	gga	gtc	1542
Asp	Gly	Glπ	Leu	Gìn	Leu	Gly	Ser	Ket	Tyr	Туг	ÅSN	Gly	Ile	Gly	Val	
	485					490					495				•	
asg	sga	gat	tat	828	cag	gee	ttg	ass	tat	ttt	aat	tta	get	tct	cag	1590
Lys	Arg	Asp	Tyr	Lys	Gln	Ala	Leu	Lys	Tyr	Phe	nsA	Leu	Ala	Ser	Gln	
5 0 D		•			505					510				٠٠.	515	
gga	gğc.	cat	atc	ttg	gçt	ttc	tet	ABC	cta	gct	cag	atg	cat	gcc	agt	1638
Gly	Gly	His	Ile	Leu	Ala	Phe	Tyr	Àsn	Leu	Ala	Gln	Met	His	Ala	Ser	
				520					525			•		530		to the second
ggc	acc	ggc	gtg	atg	cga	tca	tgt	cac	act	gca	gtg	gag	ttg	ttt	aag	1686
Gly	Thr	Gly	Yal	Met	Årg	Ser	Cys	His	Thr	Ala	Val	Glu	Leu	Phe	Lys	
•			535				•	540					545			
aat	gta	tgt	gaa	cga	ggc	cgt	tgg	tct	gas	agg	ctt	atg	act	gee	tst	1734
na k	Va1	Суб	Glu	Arg	Gly	Arg	Trp	Ser	Glu	Arg	Leu	Net	Thr	Ala	Tyr	
		550					555					560			٠	1 47
aac	agc	tat	888	gat	gec	gat	tac	aat	gct	gca	gtg	atc	Cag	tac	ctc	1782
Asn	Ser	Туг	Lys	Asp	Gly	Аsp	Tyr	វិទព	Ala	Ala	Vel	lle	Gla	Tyr	Leu	
	565					570					575					\$
ctc	ctg	gct	gaa	cag	ggc	tat	gea	gtg	gca	caa	agc	aet	gca	gcc	ttt	1830
Leu	Leu	Ala	G1u	Gln	Gly	Tyr	Glu	Va1	Ala	Gln	Ser	Asri	Ala	Ala	Phe	
580			•		585			٠.		590					595	·
att	ctt	gat	cag	ege	gea	gca	agc	att	gta	ggt	gag	aat	gaa	act	tat	1878
He	Leu	Asp	Gla	Arg	Glu	Ala	Ser	Ile	Val	Gly	Glu	Asn	Glu	Thr	Tyr	
				800	I		. *		605				•	610	٠,	
ccc	aga	gct	ttg	cta	cat	tgg	aac	agg	gcc	gcc	tct	caa	ggu	tat	act	1926
Pro	Arg	Ala	Leu	Leu	Ris	Trp	Asn	λrg	Дlа	Ala	Ser	Gln	Gly	Tyr	Thr	•
•			615	i		•		620					625			

tg got aga att asg oto gga gao tac cat tto tat ggg tit ggo acc	1974
al Aml Arg lie Lys Leu Gly Amp Tyr His Phe Tyr Gly Phe Gly Thr	
CAT BAIL	•
630 030 cat get get tet gag get get tet gag	2022
sat gta get tat gaa act god tit die Eis Tyr Arg Leu Ala Ser Glu	
855	
645	2070
cag can cac agt gos cas got atg tit sat cig ggs tat atg cat gag	•
Gln Gln His Ser Ala Gln Ala Net Phe Asn Leo Gly Tyr Net His Glu	
261)	2118
asa gga ctg ggc att asa cag gaf att cac ctt gcg asa cgt ttt tat	
Lys Gly Leu Gly He Lys Gln Asp He His Leu Ala Lys Arg Phe Tyr	
680	2166
gac atg gca gct gaa gcc agc cca gat gca cas gtc cca gtc ttc tta	
Asp Wet Ala Ala Glu Ala Ser Pro Asp Ala Gln Val Pro Val Phe Leu 705	
695 IVV	2214
goo oto tge asa ttg ggo gto gto tat tto ttg cag tac sta egg gas	
Ala Leu Cys Lys Leu Gly Val Val Tyr Phe Leu Gln Tyr Ile Arg Glu	•
710 715 720	2262
aca aac att cga gat atg tto acc caa ctt gat atg gac cag ctt ttg	
Thr Asn Ile Arg Asp Met Phe Thr Gln Leu Asp Net Asp Gln Leu Leu	
725 730 735	2310
gga cet gag tgg gac ett tac etc atg acc atc att geg etg etg ttg	5010
Gly Pro Glu Trp Asp Leu Tyr Leu Net Thr fle lie Ala Leu Leu Leu	
745	2358
gga aca gto ata got teo agg cas agg cas cas gac atg cot gos	2000
Gly Thr Val Ile Ala Tyr Arg Gln Arg Gln His Gln Asp met Fid Ala	•
760 765	m 1 m 1
coc agg cot coa ggg coa egg eca got coa coc cag cag gag ggg coa	2406
Pro Are Pro Pro Gly Pro Arg Pro Ala Pro Pro Gla Gla Gla Gly Pro	

5	775	78	30	785	•	•
cca gag cag	sag oca oca	cag t asta	aggeact ggg	tecagee ttga	stcagtg	2458
Pro Glu Glo (• .		
790	•	•	•		, , , , , , , , , , , , , , , , , , ,	
acagogaagg at	agttatotg c	tgggaacac '	ttgcatttga	tttaggacct	tggatcagtg	2518
gteacetece a:						2578
ctgatgeett to						2638
cagtgccata t			**			2698
tgagacactc a						2758
ttatttcagt g	•					2818
taaaaactga t	•				•	2878
ctgessatag s			•	•		2938
tggaactgcg s	•					2998
tatttgttat t						3058
accatactco t						311B
ctictttgga a						3178
gagtttgece (cacctactct	gtaatttgct	tgtttgtttt	gaatataeca	gagecttgat	3238
				есвазасвая	•	3298
ggtactacga '	tcacagacac	agacatacit	ttcctssagt	tgaagcattt	gttcccagga	3358
				caccttcctg		3418
•	•			ctattatcaa		3478
				a gccaaaacct		3538
		•		t atettataat		3598
				a acattaggaa		3658
the state of the s				a aeactgeage		371
				g tatticatti		377
				t togtatotge		383
				i de la companya de	agaatocoto	389
			•	t gtactgctt		395

A	4018
tiggggtag tagttagaac tagatttaac tagtctataa tgaacatgaa ggctiitata	4078
expended the taccettit to the tage of tage	4138
cotoccaga taattgette casattegaa gagttagtea cesagagage catatgtatg	4198
asagogtate igigasaggi aggassetta coccecciaa gigiaaigii gettiagges	4258
scicitgias atagigagac tigitiggic ictiacatgi agagatitga gigcagitgg	4318
tacagianti tentetoco accacigico citotocone ciicasasia agiatas	4378
acquiages coacactice ticagaagga actgitataa tilattinka agrigadaa	4438
aceccesage tractaces etticactit tittettetg ccatecace teatitiee	4438
tttogranga titttatate teactiteet teectecatt gagtaegige tilgagadaa	4.5
cattlettes ascagigigi gocacciasg gotggatggg asagigeagt crigitytic	4558
ntotagasa cacacticit attagittac coactigori itticiatig ilaaigilei	4618
gaefffectf ticitgectt gittetacit cattitaacc cigggicsel igelgecage	4678
antifotona tegistetti caantaacti agtiettaig geticacita aagacigeet	4788
casasstact tigetetett etiettitti giteatgggs catggiacet asgestating	4798
gestionsti testititici ectaanataa igeteaniae itaectaate assiggonio	4858
nottigente agatgacast sactasaget agttestate agtgacatis sactametee	4918
aggettered agtitisate tiagnatita gattisaceg atagagists goldentes	4978
tecatgging occatetete ctangacett tietagtetg tetteetgee tieganettg	5038
etgacagtas ascectgitt agtaticici tgigcattig gittgitggi tagccgacty	5098
tottgasact atteatitie ettetagtit tattitacag aggtagesti ggtgggtitt	5158
terreasure accounts to the second terrest to the second terrest terres	5218
tittgattag cagicaatgg canagaasaa ginaatcaaa gatgactici titcaaaatg	5278
tatggeett ttattgeact titaacteag atgaatitat aaattattaa teitgatact	5338
anggatitgt tacttitting catatinggt taattitine ettacatete agagtettac	5898
anguatitet tactititie tatatuage tautet gastitieg anacccetec cogigatet; cactaageca ticigitetet giacigitieg gasgitiigg anacccetec cogigatet;	g 5458
cactaageca ticigiciei giacigitge gazzattes acaggaaact taagtatti gigatgatet gatgatitet tiaaagagee gitgatgeet eeaggaaact taagtatit	t 5518
gigatgatet gatgatitet tiamagaget gitgatgat and attactet attactatat atataggast ittititat ittigetitgi effected effectita	t 5578
attentata atataggant tillilling tilling attentata atanatgan	a 5638
cctcatgitc attcitcasa ccagigitit ggaagtaige aigeaggeet atasaigas	t 5698
organistr titateteta tagcatgigi attanigici accionatat gotto	

cofftacaga ggffoggact sacafffoac afgcacafff casascaaga fgfgfoatga	อเจอ
asaczgecce tttacetgee asgaczages gggetatatt tesgigsesg etggatattt	5818
tgittetgaa agtgaatete ataatatata tatgtattae acattettat gaetagaagt	5878
etgtaegaea tgatcagaac aasagassat ttctattttc atgcasatat ttttcatcag	5998
tcatcactet cazatatana ttanantata acactectga atgectgagg cacgatuigg	5998
attitasatg tgtggtatte attgssasga ageteteese eesettggta titesagaas	6058
atitaaaacg atcccaagga aagatgatit giatgitaaa gigacigcac aagiaaaagi	6118
ccaatgttgt gtgcatgaaa aggzttcctt ggttatgtge agggaatcat ctcacatgct	6178
gtttttccta tttggtttga gaaacagget gacactatte tetttgatta gaasataaac	6238
tcatesaact catzatgttg atetestcaa gatgttascc actatasata tgtagaagag	6298
gasytttaa afagacctta agctggcatt gtgaaggaac accatggtag actetttttg	6258
gtaatggtat titgtatita atgaaatgca gtataaaggt tggigaagtg taataataat	6418
tgtgtaeace eatoctgttt aatagaagag afgtacagsa tcgttttggt actgtatctt	6478
gaaacttgtg aaataaagat tecaettttg gttateetgt atgetgtaat ataccacaac	6538
caagcaccct ttccagacag acttttttta agctgaatga atccaetttt ttaatgtttt	6598
tiggaaatic agaagctict gaaaacatic actigiggs attigaaitt atsitteati	6658
ttaaactcct gaazitcaga fittiacaag tccaalatig cectagggag aacatgaatt	6718
tgctasgasa tgttatettt tasafeleig statettigt ettgasgeag cettgatatg	6778
tagtaagogt gaticacitt agootgatta taataitatt taictaaagi tigittaigo	6838
attgeettgt cocaggaatt tittaagagg acttgeagag acaegtacea cacagtaaca	6898
tttegecten atatgctotg agtenegges enetgenena stettamete nagegtgane	6958
atgtacacaa agtgcaattg gaagtgggct acasatttag cocceagctt cocagcaggc	7018
ascicasega ggiaacigag giasasigii ccagcicaga agcetiggai citggaiaaa	7078
pagectacat gatgeaaact gtggeaactg agatgteaga teteaagate temaattgta	7138
cttgtgggag cacagtcagt gaccccagat gaccttgact gacctaaaag ttgtgggga	7198
agtoggatgt cagagootta acaccagoag gtgaccatoe aacctggggc aatgootgco	7258
tgttcaccac ttagcctctt tctggcaagt cattagaatg tcctccatct tcattggctg	7318
caactigatg agctacagoc tetticctes effectiat gatgetagti taggitggit	7376
ataccagett ggangfatge tingettang tincagenge tacacanatt agatgenagt	7498

aaseasaatc agaatttu	te tagtagaeac	tacgasasst	8888828888	gtttttactt	7498
tttgggtatt tttttacg	na taogsaasag	tgagcgttaa	tcagttcasa	aggaggtact	7558
gctgtgtaat gggctttg	ta egitectici	catgtcactt	acgtesctac	ttegecatea	7618
sattgaecae gcttttaa	tt egatootgaa	anticactet	gctagtagtt	tattggtagt	7678
attatatttt gagtagaa	et etgattttcc	ctagaggcca	aattctttt	atctgggtts	7738
atttetttta aecataac	es fortastect	gaattgtata	ttaeetccce	tttctaaaaa	7798
ccacacaatt tittctca	te taacticact	genateteet	tagttaactg	aatttggaat	7858
gttcatataa ataattta)			7885
Effektigen nengeres	CL BALBALA	,			
<210> 4					
(211) 10					
(212) DNA					•• •
(213) Frimer seque	nne for PCR of	TSA305	V		
(213) 111mer seque (400) 4					
					10
gatetgacae			•	•	
<210> 5				•	*
(211) 28		**************************************			•
<212> DNA			•	•	
<213> Primer sequ	ence for PCR o	f TSABO5			
(400) 5			· · · · · · · · · · · · · · · · · · ·		
gatoggatoc aggagg	atec egetcege				28
20.0050		• •	e e e e e e e e e e e e e e e e e e e	· · · · · · · · · · · · · · · · · · ·	•
<210> 6					<i>7</i> .
<211> 30	· · · · · · · · · · · · · · · · · · ·	,			-
(212) DNA	•		•		•
<213> Primer seq	uence for PCR	of TSA305			
<400> 6					
	efect conforts	ret ·			80